

温玉丛, 范凯华, 师慈, 等. 褐飞虱对吡虫啉的田间抗性动态分析 [J]. 南京农业大学学报, 2010, 33 (4): 55 - 58

## 褐飞虱对吡虫啉的田间抗性动态分析

温玉丛<sup>1</sup>, 范凯华<sup>1</sup>, 师慈<sup>1</sup>, 穆兰芳<sup>2</sup>, 韩召军<sup>1\*</sup>

(1. 南京农业大学农业部病虫监测与治理重点开放实验室, 江苏 南京 210095; 2. 吴江市植保站, 江苏 吴江 215200)

**摘要:** 连续对南京、吴江和安庆 3 个地理种群的褐飞虱进行了吡虫啉的抗性动态监测, 并对相关的室内筛选品系进行了适合度分析。结果显示: 虽然 2005 年以来国内已经较少使用吡虫啉防治褐飞虱, 但褐飞虱对吡虫啉的抗性并没有显著下降 (由 26.6 ~ 147.8 倍到 37.4 ~ 87.3 倍)。然而通过构建褐飞虱不同品系的实验种群生命表发现, 褐飞虱对吡虫啉产生抗性后, 其适合度显著下降, 仅为敏感品系的 0.191, 表明褐飞虱杂合种群对吡虫啉的抗性具有不稳定性, 在不接触药剂的情况下, 田间抗性会逐步下降。对这一矛盾现象的讨论分析认为, 目前田间褐飞虱对吡虫啉抗性没有显著下降的原因, 一方面是局部地区还在使用吡虫啉, 主要用于早期防治白背飞虱; 另一方面目前使用的某些替代防治药剂可能与吡虫啉具有某种交互抗性关系。

**关键词:** 褐飞虱; 吡虫啉; 抗药性; 生物适合度

中图分类号: S481<sup>+</sup>.4

文献标志码: A

文章编号: 1000 - 2030 (2010) 04 - 0055 - 04

## Dynamics in imidacloprid resistance in field population of *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae)

WEN Yu-cong<sup>1</sup>, FAN Kai-hua<sup>1</sup>, SHI Ci<sup>1</sup>, MU Lan-fang<sup>2</sup>, HAN Zhao-jun<sup>1\*</sup>

(1. Key Laboratory of Monitoring and Management of Plant Diseases and Pests, Ministry of Agriculture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Wujiang Station of Plant Protection, Wujiang 215200, China)

**Abstract:** Three field populations (Nanjing Jiangsu, Wujiang Jiangsu, Anqing Anhui) were continuously monitored in different years, and some related strains were also subjected to fitness analysis in this work. The results showed that imidacloprid resistance in field populations of brown planthopper (BPH) (RR 37.4 - 87.3) had not changed much as compared with that in 2005 (RR 26.6 - 147.8), though imidacloprid had been limited to use for controlling this pest for 3 years. However, the study with life tables demonstrated that the resistant strain exhibited very low relative fitness (0.191). This means that imidacloprid resistance was unstable in heterozygous populations. When insecticide sprays were suspended, BPH could recovery its susceptibility to imidacloprid. Discussion found that two possible reasons could explain why no susceptibility recovery was found in the field population of BPH. Firstly, imidacloprid was still used somewhere, especially for control of the white-backed plant hopper in the early season, which could sustain the imidacloprid resistance of BPH. Secondly, the substitute insecticides could have some cross-resistance with imidacloprid.

**Key words:** *Nilaparvata lugens* (Stål); imidacloprid; resistance; biological fitness

吡虫啉是一种新烟碱类杀虫剂, 由于其独特的作用方式及快速高效的防治效果, 自推广应用以来, 一直是防治褐飞虱 (*Nilaparvata lugens* (Stål)) 的首选药剂<sup>[1-4]</sup>。但 2005 年褐飞虱田间大暴发时, 吡虫啉的防效显著下降, 监测结果显示褐飞虱对吡虫啉的抗性已达到中高水平, 后期防治失败田的褐飞虱抗性达到了极高水平<sup>[5-7]</sup>。此后, 我国在褐飞虱防治上限制使用吡虫啉, 改用其他替代药剂。

Liu 等<sup>[2]</sup>利用室内筛选抗性品系, 曾经详细研究了褐飞虱对吡虫啉的抗性, 发现其主要抗性机制是氧化代谢解毒能力增加和靶标变异, 抗性褐飞虱的生物适合度极低, 推测其田间抗性不稳定, 敏感性恢复较快。但田间种群是否也是如此尚不清楚, 还需要进一步对田间种群进行相应的试验分析。此外, 目前生产上有人声称吡虫啉仍可有效防治稻飞虱, 甚至有人怀疑褐飞虱对吡虫啉的抗性已经消失。为了弄清田间褐飞虱对吡虫啉的抗性动态, 为合理用药提供理论依据, 本文报道了安徽安庆 (北纬 30°31'

收稿日期: 2009 - 04 - 24

基金项目: 国家 863 计划项目 (2008AA10Z413); 国家科技支撑计划项目 (2006BAD02A16)

作者简介: 温玉丛, 博士研究生。\* 通讯作者: 韩召军, 教授, 博导, 研究方向为昆虫毒理学、昆虫生物化学与分子生物学,

E-mail: zjhan@njau.edu.cn。

29.86", 东经 117°03'24.23")、江苏南京(北纬 32°02'57.33", 东经 118°58'10.34") 和江苏吴江(北纬 31°09'27.81", 东经 120°38'38.52") 3 个地区的褐飞虱对吡虫啉抗性的连续监测结果, 同时利用抗性再筛选、抗性回复试验和测定不同品系生物适合度, 对田间褐飞虱的抗性发展趋势进行了分析。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试昆虫

敏感品系: 褐飞虱于温室内在长期不接触任何杀虫剂的条件下, 用汕优 63 水稻进行常规饲养, 生物测定显示吡虫啉的点滴  $LD_{50}$  值为每头 0.12 (0.10~0.15) ng。

田间种群: 南京、吴江和安庆 3 地的褐飞虱, 分别于 2005、2006 和 2008 年采自正常耕作稻田, 在温室饲养一代后进行杀虫剂生物测定。

抗性品系: 由 2005 年采自吴江的田间种群经吡虫啉室内筛选 19 代获得, 对吡虫啉抗性为 380.96 倍。

敏感恢复品系: 由 2005 年的吴江种群于温室内、在不接触药剂的情况下常规饲养 19 代获得, 对吡虫啉抗性为 21.92 倍。

### 1.2 供试药剂

97% 吡虫啉原药由江苏红太阳有限公司提供。

### 1.3 试验方法

毒力测定采用点滴法, 参照 Nagata 等<sup>[8]</sup>的方法并加以改进。供试昆虫为 3~5 日龄的长翅雌成虫, 用  $CO_2$  麻醉 15~20 s, 然后用手动微量点滴器 (Burkard Manufacturing Co Ltd, Richmansworth England) 将 0.04  $\mu$ L 的药液点滴在试虫的前胸背板上。吡虫啉用丙酮倍比稀释成 5~6 个浓度, 每浓度处理 30 头, 重复 3 次, 用丙酮作对照。处理后的试虫接入装有无土栽培稻苗的饲养杯中, 然后置于 (25  $\pm$  1)  $^{\circ}C$  的光照培养箱内, 光照周期为 16 h/8 h (光/暗), 相对湿度为 70%~80%。饲养 24 h 后检查结果, 以试虫不能移动为死亡标准。

### 1.4 统计方法分析

检测结果按 Finney 机率值法求出 LD-p 回归方程、 $LD_{50}$  值及其 95% 置信区间等, 使用 Excel 进行数据处理<sup>[9]</sup>。抗性倍数 (resistance ratio, RR) = 田间种群的  $LD_{50}$ /敏感种群的  $LD_{50}$ 。

### 1.5 室内抗性筛选

室内抗性筛选所采用的起始种群为 2005 年采自吴江的田间种群。抗性筛选模拟田间防治的喷雾法, 每代选取约 5 000 头 3 龄若虫进行筛选处理, 将处理试虫的死亡率控制在 50%~70%, 然后将存活的试虫转移至新鲜无药的汕优 63 水稻上饲养, 繁殖至下一代供继续筛选, 每两代进行一次毒力测定。

### 1.6 实验种群生命表的构建

参照刘泽文等<sup>[10]</sup>方法构建褐飞虱敏感品系、敏感恢复品系和抗性品系的实验种群生命表, 每个品系随机取 100 只初孵若虫, 一直饲养至下代若虫孵化, 观察并记录饲养过程中的下列指标: 初孵若虫到 3 龄若虫的存活率, 3 龄到 5 龄若虫的存活率、羽化率、雌虫比例、有效产卵量和孵化率, 并据此计算下代初孵若虫数和种群数量趋势指数, 确定抗性品系相对适合度的变化。每个品系重复 3 次。

$$\text{种群数量趋势指数 } (I) = N_{n+1}/N_n,$$

式中:  $N_n$  为上一代个体数;  $N_{n+1}$  为下一代个体数。若敏感品系的种群数量趋势指数为  $I_S$ , 敏感恢复品系和抗性品系的种群数量趋势指数分别为  $I_{FR}$  和  $I_R$ , 则敏感恢复品系和抗性品系的相对适合度相应为  $I_{FR}/I_S$  和  $I_R/I_S$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 褐飞虱对吡虫啉抗性水平的年度间变化

由表 1 可以看出, 2005 年早期田间褐飞虱 (安庆 2 代) 对吡虫啉为中等抗性 (26.6 倍), 后期由于大发生用药的选择压力, 抗性上升很快, 且不同地区用药情况不同, 抗性差异较大, 3 代的抗性大约在 50~150 倍。2005 年后期抗性增长, 致使 2006 年田间早期种群 (安庆 2 代) 的抗性明显升高 (37.4 倍), 但由于吡虫啉的应用受到一定限制, 世代间的抗性发展明显减缓, 地区间差异也显著变小, 3 代

的抗性大致在 60 倍左右。2008 年监测结果同样显示世代间的抗性发展进一步减缓, 地区间差异变小, 表现出限制使用吡虫啉的效果。由于试虫采集的问题, 2008 年抗性监测的世代推迟了一代, 不同地区的褐飞虱抗性均相应比 2006 的高, 但同一世代的抗性基本一致, 即 2008 年 3 代褐飞虱 (安庆) 的抗性为 61.1 倍, 4 代的大致在 80 倍左右。显然, 尽管近 3 年吡虫啉的应用受到一定限制, 但田间褐飞虱对吡虫啉的抗性没有出现明显的下降。

表 1 2005 至 2008 年南京、吴江和安庆地区褐飞虱对吡虫啉抗性水平的变化

Table 1 Variations in resistance to imidacloprid in *Nilaparvata lugens* from Nanjing, Wujiang and Anqing during the period 2005 to 2008

采集时间 Collected year	地区 Areas	监测代次 Generations detected	致死中量 (95% 置信限) / (ng · pest <sup>-1</sup> ) LD <sub>50</sub> (95% FL)	斜率 Slope	抗性倍数 Resistance ratio (RR)
	敏感品系 Susceptible strain		0.12 (0.10 ~ 0.15)	1.551	1.0
2005	南京 Nanjing	3	6.68 (5.86 ~ 7.59)	3.538	54.5
	吴江 Wujiang	3	18.12 (15.99 ~ 20.55)	3.698	147.8
	安庆 Anqing	2	3.27 (2.13 ~ 5.01)	1.159	26.6
	南京 Nanjing	3	7.18 (5.57 ~ 9.11)	1.229	59.8
2006	吴江 Wujiang	3	7.81 (6.65 ~ 9.18)	1.975	65.1
	安庆 Anqing	2	4.49 (2.90 ~ 6.95)	1.147	37.4
	南京 Nanjing	4	9.71 (7.80 ~ 12.08)	1.350	80.9
2008	吴江 Wujiang	4	10.48 (8.78 ~ 12.51)	1.820	87.3
	安庆 Anqing	3	7.51 (6.24 ~ 9.04)	1.562	61.1

## 2.2 褐飞虱不同品系的相对生物适合度

利用 2005 年在吴江采集的田间抗性种群为起始种群, 在室内进行吡虫啉抗性再筛选和敏感性恢复试验, 发现继续筛选可以使抗性进一步提高, 筛选 19 代后抗性由 147.82 倍上升到 380.96 倍; 而不接触药剂饲养 19 代后, 其抗性则下降到 21.92 倍<sup>[7]</sup>。本研究利用室内敏感品系、再筛选抗性品系和敏感性恢复品系, 构建实验种群生命表, 进一步测定了抗性褐飞虱的相对生物适合度。结果显示, 敏感品系和敏感恢复品系的种群数量趋势指数分别是 134.3 和 119.5, 敏感恢复品系仅在高龄若虫存活率和成虫羽化率两个指标上显著低于敏感品系, 其相对适合度达 0.889。但抗性品系的种群数量趋势指数仅有 25.6, 除了雌虫比例之外, 各项观测指标均显著低于敏感品系, 尤其是产卵量和孵化率, 均不到敏感品系的一半, 其相对适合度只有 0.191。这表明, 在没有药剂选择的情况下, 抗性褐飞虱存在明显的生存劣势, 随着繁殖世代的增加, 抗性杂合种群将因抗性个体的比例减小而逐步恢复其敏感性。

表 2 褐飞虱敏感品系、敏感恢复品系和抗性品系的实验种群生命表

Table 2 Life tables of the susceptible strain, susceptibility recovery strain and resistant strain of *N. lugens*

参数 Parameter	敏感品系 Susceptible strain	敏感恢复品系 Susceptibility recovery strain	抗性品系 Resistant strain
初孵若虫数量 Neonate number	100	100	100
初孵若虫数量至 3 龄若虫存活率/% Survival rate from neonate to 3rd instar	95.6 ± 2.4 <sup>a</sup>	92.1 ± 5.2 <sup>ab</sup>	87.1 ± 4.9 <sup>b</sup>
3 龄若虫至 5 龄若虫存活率/% Survival rate from 3rd to 5th instar	89.5 ± 2.3 <sup>a</sup>	73.2 ± 7.4 <sup>b</sup>	66.3 ± 6.5 <sup>b</sup>
羽化率/% Emergence rate	87.3 ± 1.2 <sup>a</sup>	78.3 ± 4.7 <sup>b</sup>	63.0 ± 6.8 <sup>c</sup>
雌虫比例/% Female ratio	51.1 ± 0.8 <sup>a</sup>	50.5 ± 1.0 <sup>a</sup>	50.2 ± 0.9 <sup>a</sup>
有效产卵量 Fecundity (eggs per female)	307.3 ± 17.7 <sup>a</sup>	288.5 ± 9.3 <sup>a</sup>	127.5 ± 11.6 <sup>b</sup>
孵化率/% Hatchability	85.5 ± 2.0 <sup>a</sup>	82.0 ± 0.6 <sup>a</sup>	40.0 ± 3.7 <sup>b</sup>
子代数量 (N) Predicted number of offspring	13 426.1	11 946.8	2 560.2
种群数量趋势指数 (I) Population trend index	134.3	119.5	25.6
相对适合度 Relative fitness	1	0.889	0.191

注: 同行不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著 (多重比较)。Values in the same row with the same letter do not differ significantly at  $\alpha = 0.05$  (Duncan's tests).

## 3 讨论

吡虫啉自推广应用后一直是稻飞虱防治的主要药剂之一<sup>[1]</sup>, 尽管田间连续单一使用, 但监测显示褐飞虱对吡虫啉的抗性长期处于敏感水平<sup>[11-13]</sup>。直至 2003 年, 刘泽文等<sup>[10]</sup>利用室内抗性筛选, 首次证实了褐飞虱对吡虫啉具有产生高水平抗性的潜力; 而且 2005 年, 国内广大稻区也陆续暴发了吡虫啉

的抗性<sup>[5,7,14-15]</sup>。随之,田间褐飞虱对吡虫啉的抗性发展被广泛关注起来。

另一方面,从杀虫剂的抗性产生情况看,褐飞虱对吡虫啉的抗性发展是比较缓慢的<sup>[2,16-17]</sup>,这暗示了褐飞虱对吡虫啉产生高水平抗性后,其种群在发展上很可能存在某种劣势。Liu等<sup>[3]</sup>利用室内筛选的吡虫啉抗、感品系发现,其高抗品系的适合度仅有敏感品系的1/10。本研究中田间抗性种群经再筛选后,其适合度也仅有敏感品系的1/5。因此认为,吡虫啉的抗性可导致其种群劣势。虽然,本研究的试虫并不是同时采集的(不同源),但褐飞虱是迁飞性害虫,不同地区的试虫共用一个基因池,而且3个品系在同等的室内条件下进行了一定时间的饲养,不存在短期环境差异的干扰,故仅有药剂处理造成的抗药性差异是影响适合度变化的主要因子。从而推测,停止药剂筛选,抗性杂合种群会因为抗性个体的生存劣势而使其比例逐步下降,表现为抗药性降低<sup>[16-17]</sup>。此外,室内敏感性恢复试验也证实,即使是田间防治失败的高抗种群,也是抗性杂合种群,继续用药筛选抗性会继续升高,停止用药抗性也会逐步下降<sup>[7]</sup>。

本文的抗性监测显示,田间褐飞虱对吡虫啉的抗性没有显著下降,可能有两方面的原因。其一,尽管2005年褐飞虱对吡虫啉抗性暴发,褐飞虱防治上已限制使用吡虫啉,但田间操作并没有完全停用。尤其是生长季早期,稻田中褐飞虱与白背飞虱混合发生,而白背飞虱一直对吡虫啉敏感,所以在田间防治上,吡虫啉仍作为防治稻飞虱的理想药剂而被继续使用。可以看出,尽管近年来在褐飞虱防治上限制使用吡虫啉,但实际上褐飞虱仍在接受吡虫啉的选择,仅是选择压力有所降低而已。其二,限制使用吡虫啉后,防治褐飞虱选用了一些替代药剂,但其中有些是新烟碱类杀虫剂,可能与吡虫啉存在交互抗性,Liu等<sup>[2]</sup>研究已经证实这些药剂间大都存在交互抗性,这显然也是影响褐飞虱敏感性恢复的重要因素。

由此笔者认为,目前田间褐飞虱对吡虫啉仍然保持较高的抗性,如大发生时使用吡虫啉防治,仍可能导致防治失败。此外,由于褐飞虱对吡虫啉产生抗性后适合度显著降低,田间种群对吡虫啉的抗性也是不稳定的,故可以通过停用吡虫啉来恢复其敏感性。但要加速敏感性的恢复,必须尽量避免褐飞虱接触吡虫啉或与吡虫啉有交互抗性的杀虫剂。因此,必须加强交互抗性的研究和药剂开发,以便筛选更好的稻飞虱防治药剂。

#### 参考文献:

- [1] 姚洪渭,叶恭银,程家安. 亚洲地区稻飞虱抗药性研究进展 [J]. 农药, 1998, 37 (9): 6-11
- [2] Liu Zewen, Han Zhaojun, Wang Yinchang, et al. Selection for imidacloprid resistance in *Nilaparvata lugens*: cross-resistance patterns and possible mechanisms [J]. Pest Manag Sci, 2003, 59: 1355-1359
- [3] Liu Zewen, Han Zhaojun. Fitness costs of laboratory-selected imidacloprid resistance in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål) [J]. Pest Manag Sci, 2006, 62: 279-282
- [4] 唐振华,陶黎明,李忠. 害虫对新烟碱类杀虫剂的抗药性及其治理策略 [J]. 农药学报, 2006, 8 (3): 195-202
- [5] Matsumura M, Takeuchi H, Satch M, et al. Species-specific insecticide resistance to imidacloprid and fipronil in the rice planthoppers *Nilaparvata lugens* and *Sogatella furcifera*, in East and South-east Asia [J]. Pest Manag Sci, 2008, 64: 1115-1121
- [6] Wang Yanhua, Gao Congfen, Zhu Yucheng, et al. Imidacloprid susceptibility survey and selection risk assessment in field populations of *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae) [J]. J Econ Entomol, 2008, 101: 515-522
- [7] Wen Yucong, Liu Zenwen, Bao Haibo, et al. Imidacloprid resistance and its mechanisms in field populations of brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål) in China [J]. Pestic Biochem Physiol, 2009, 94: 36-42
- [8] Nagata T, Masuda T, Moriya S. Development of insecticide resistance in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål (Hemiptera: Delphacidae) [J]. Appl Ent Zool, 1979, 14 (3): 264-269
- [9] Finney D J. Probit Analysis [M]. 3rd ed. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 1971: 333
- [10] 刘泽文,刘成君,张洪伟,等. 褐飞虱抗吡虫啉品系生物适合度研究 [J]. 昆虫知识, 2003, 40 (5): 419-422
- [11] Hirai K. Recent trends of insecticide susceptibility in the brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stål) (Hemiptera: Delphacidae) in Japan [J]. Appl Entomol Zool, 1993, 28 (3): 339-346
- [12] 毛立新,梁天锡. 水稻飞虱对十三种杀虫剂的抗性监测 [J]. 中国水稻科学, 1992, 6 (2): 70-76
- [13] 梁天锡,毛立新. 水稻飞虱的抗药性监测研究 [J]. 华东昆虫学报, 1996, 5 (1): 89-93
- [14] 王彦华,王鸣华. 褐飞虱抗药性及再猖獗研究进展 [J]. 农药, 2006, 45 (4): 227-230
- [15] 王彦华,李永平,陈进,等. 褐飞虱对吡虫啉敏感性的时空变化及现实遗传力 [J]. 中国水稻科学, 2008, 22 (4): 421-426
- [16] 吴孔明,刘芹轩. 棉蚜对杀虫剂抗性的稳定性 [J]. 昆虫学报, 1995, 38 (2): 253-255
- [17] 吴益东,沈晋良,谭福杰,等. 棉铃虫对拟除虫菊酯抗性稳定性研究 [J]. 昆虫学报, 1996, 39 (4): 342-346