应用生态学报 2016年1月 第27卷 第1期 http://www.cjae.net
Chinese Journal of Applied Ecology, Jan. 2016, 27(1): 255-262 DOI: 10.13287/j.1001-9332.201601.036

灰飞虱对噻嗪酮的抗性风险及机理

毛旭连 刘 锦 李许可 迟家家 刘永杰*
(山东农业大学植物保护学院, 山东泰安 271018)

摘 要 为研究灰飞虱对噻嗪酮的抗性发展规律及抗性生化机理,采用稻苗喷雾法对灰飞虱种群进行连续筛选获得高抗性品系,估算其现实遗传力并进行田间抗性风险预测;采用稻苗浸渍法测定杀虫剂对灰飞虱的毒力及交互抗性;利用生物化学方法测定不同品系之间的解毒酶活力,探讨灰飞虱对噻嗪酮的抗性生化机理.结果表明:用噻嗪酮对灰飞虱种群连续筛选32代,其抗性倍数达到168.49倍,现实遗传力 h^2 为0.11.当杀死率为80%~90%时,预计灰飞虱对噻嗪酮的抗性增长10倍,仅需要5~6代.田间实际的现实遗传力要比室内选择种群估计低一些,预计田间抗性提高10倍所需要时间会更长.交互抗性测定结果表明,灰飞虱抗噻嗪酮品系与吡虫啉和噻虫嗪之间有高水平交互抗性,与啶虫脒有低水平交互抗性,与吡蚜酮和毒死蜱无交互抗性.增效作用和解毒酶活力测定结果显示,抗性品系细胞色素P450单加氧酶活力提高最大,酯酶次之,谷胱甘肽-S-转移酶无显著变化.田间使用噻嗪酮防治灰飞虱存在较大抗性风险,可与吡蚜酮和毒死蜱等交替使用以延缓抗性发展;3种解毒酶中,细胞色素P450单加氧酶在灰飞虱对噻嗪酮的抗性发展中起到了重要作用.

关键词 灰飞虱; 噻嗪酮; 抗性筛选; 风险评估; 交互抗性; 生化抗性机理

Resistance risk, cross-resistance and biochemical resistance mechanism of *Laodelphax striatellus* to buprofezin. MAO Xu-lian, LIU Jin, LI Xu-ke, CHI Jia-jia, LIU Yong-jie* (*College of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Tai'an* 271018, *Shandong, China*).

Abstract: In order to investigate the resistance development law and biochemical resistance mechanism of *Laodelphax striatellus* to buprofezin, spraying rice seedlings was used to continuously screen resistant strains of *L. striatellus* and dipping rice seedlings was applied to determine the toxicity and cross-resistance of *L. striatellus* to insecticides. After 32-generation screening with buprofezin, *L. striatellus* developed 168.49 folds resistance and its reality heritability (h^2) was 0.11. If the killing rate was 80%-90%, *L. striatellus* was expected to develop 10-fold resistance to buprofezin only after 5 to 6 generations breeding. Because the actual reality heritability of field populations was usually lower than that of the resistant strains, the production of field populations increasing with 10-fold resistance would need much longer time. The results of cross-resistance showed that resistant strain had high level cross-resistance with thiamethoxam and imidacloprid, low level cross-resistance with acetamiprid, and no cross-resistance with pymetrozine and chlorpyrifos. The activity of detoxification enzymes of different strains and the syergism of synergist were measured. The results showed that cytochrome P450 monooxygenase played a major role in the resistance of *L. striatellus* to buprofezin, the esterase played a minor role and the GSH-S-transferase had no effect. Therefore, *L. striatellus* would have high risk to develop resistance to buprofezin when used in the field and might be delayed by using pymetrozine and chlorpyrifos.

Key words: *Laodelphax striatellus*; buprofezin; resistance screening; risk assessment; cross-resistance; biochemical resistance mechanism.

本文由国家国际科技合作专项(2012DFG31740)和山东省现代农业产业技术体系玉米专项资助 This work was supported by the International S&T Cooperation Program of China (2012DFG31740) and Technology System of Modern Agricultural Industry in Shandong Province.
2015-03-30 Received, 2015-11-10 Accepted.
* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: lyj@sdau.edu.cn

灰飞虱(*Laodelphax striatellus*)属半翅目飞虱科,分布于东亚、东南亚、欧洲、北非等地,中国各省区均有发生[1].灰飞虱是一种重要农业害虫,除以成虫和若虫刺吸为害水稻、小麦等作物外,还传播水稻条纹叶枯病、黑条矮缩病、小麦丛矮病和玉米粗缩病等多种病毒病,其传毒为害造成的损失远大于刺吸为害[2].灰飞虱具有迁飞性和暴发性等特点,极易暴发成灾.20 世纪 70 年代之前,灰飞虱只是亚洲水稻生产国家的次要害虫,以后随着农业耕作制度改变、水稻新品种推广、水肥条件改善、农药大量使用,其危害区域逐年扩大,暴发频率逐渐增加,危害程度日趋加重,现已成为威胁我国等国家水稻生产的主要害虫之一[3-4].由于气候变化影响,灰飞虱对温度的适应能力逐渐增强[5].灰飞虱抗逆性强,越冬场所广泛,在我国北方地区冬小麦等植株上可以越冬.

近年来,在我国北方地区,特别是黄淮地区危害夏播苗期玉米,导致玉米粗缩病普遍发生,造成严重减产[6-9].在山东、河南、河北等地不得不推迟玉米夏播时间,避开灰飞虱成虫发生期和玉米苗期重合[10].防治灰飞虱主要依靠杀虫剂,长期大量使用农药,导致灰飞虱产生抗药性和再猖獗等问题[11].噻嗪酮(buprofezin,扑虱灵)是一种抑制昆虫表皮几丁质合成的生长调节剂,通过影响昆虫外骨骼的几丁质-蛋白质结构干扰蜕皮,导致昆虫脱水死亡[12].噻嗪酮具有对目标害虫活性高和对非靶标生物安全等优点,广泛用于防治稻飞虱、叶蝉、白粉虱等农业害虫[13].在北方小麦、玉米、水稻主产区,灰飞虱对噻嗪酮的抗药性水平及抗性机理尚不清楚.本研究通过用噻嗪酮对灰飞虱进行抗性筛选,明确其抗性发展趋势及抗性机理,为科学合理地利用噻嗪酮、延缓灰飞虱的抗药性发展提供依据.我国南方不同地区田间灰飞虱种群对噻嗪酮均产生了不同程度的抗药性.林友伟等[14]用稻茎浸渍法测定江苏白马湖农场麦田灰飞虱对噻嗪酮的毒力 LC_{50} 为 0.53 mg·L^{-1}.彭永强等[15]用稻茎浸渍法测定无锡和湖州地区灰飞虱种群对噻嗪酮的抗性倍数分别为 58.6 和 80.8 倍.王利华等[16]用浸苗法测定了江苏句容、通州、楚州、大丰、南京和苏州及安徽庐江等 7 个灰飞虱种群对噻嗪酮的抗性,其抗性倍数均>200 倍,抗性均达到极高水平.Zhang 等[17]利用噻嗪酮对灰飞虱种群进行连续筛选获得抗性倍数为 80.2 倍的抗性种群,通过活体增效试验和解毒酶活力测定,表明细胞色素 P450 单加氧酶在灰飞虱对噻嗪酮抗性形成过程中起着重要作用.

灰飞虱可在山东、河北、河南等北方地区麦田越冬,来年在麦田羽化为成虫后,转入夏播水稻、玉米田继续危害,传播病毒,故春季是其药剂防治的关键时期,噻嗪酮等是主要防治用药剂.本研究拟用采自山东泰安麦田的灰飞虱种群,通过抗性选育,建立灰飞虱抗噻嗪酮种群,预测其抗性发展趋势,明确交互抗性谱和抗性机理,为灰飞虱对噻嗪酮的抗性治理提供依据.

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试昆虫 相对敏感品系(TAS):2011 年 5 月采自山东泰安山东农业大学南校区实验麦田的灰飞虱成虫,在(25±1) ℃、相对温度(RH)80%、光周期 16L∶8D 的光照培养箱内用武育粳 3 号稻种长期饲养,期间不接触任何杀虫剂,作为本试验的相对敏感品系.

抗噻嗪酮品系(TA-bup):用噻嗪酮对采自上述同一地点的灰飞虱种群采用稻苗喷雾法对 3 龄若虫进行连续筛选 32 代后,抗性上升到 168.49 倍,作为抗性品系.

抗性衰退品系(TA-D):将用噻嗪酮筛选 32 代的抗性品系在不接触任何杀虫剂的光照培养箱内继续饲养 10 代,抗性衰退至 130.03 倍,作为抗性衰退品系.

田间品系(TAF):2011 年 5 月采自山东泰安山东农业大学南校区植物保护实验站的灰飞虱成虫,在室内繁育 1 代后作为田间品系.

1.1.2 供试药剂 97%噻嗪酮原药,江苏长隆化工有限公司;25%噻嗪酮可湿性粉剂,上海悦联化工有限公司;25%噻虫嗪可分散粉剂,先正达作物保护有限公司;10%吡虫啉可湿性粉剂,江西正邦生物化工股份有限公司;10%啶虫脒乳油,海南利蒙特生物农药有限公司;480 g·L^{-1}毒死蜱乳油,京博农化科技股份有限公司;25%吡蚜酮可湿性粉剂,百农思达(北京)农用化学品有限公司.

1.1.3 供试试剂 增效醚(PBO,90%)、顺丁烯二酸二乙酯(DEM,96%)、乙二胺四乙酸(EDTA)、二硫苏糖醇(DTT)、苯基硫脲(PTU)、α-苯基磺酰氟(PMSF)、考马斯亮蓝 G-250、牛血清蛋白、还原型辅酶Ⅱ钠盐、1-氯-2,4-二硝基苯(CDNB)、还原型谷胱甘肽(GSH),Sigma 化学有限公司;5,5-二硫二硝基苯甲酸(DTNB),安徽海华科技股份有限公司;碘代硫化乙酰胆碱(ATCh)、Triton X-100,Fluka 公司;磷

酸三苯酯(TPP,99%),上海化学制药一厂;α-乙酸萘酯(α-NA)、固兰 RR 盐,上海化学制剂厂;磷酸二氢钠、磷酸氢二钠,天津市凯通化学试剂有限公司;对硝基苯甲醚,安徽海华科技股份有限公司;葡萄糖、氢氧化钠,天津市凯通化学试剂有限公司;丙酮、硫酸等其他试剂均为国产分析纯.

1.2　试验方法

1.2.1 灰飞虱抗性筛选　参考王耀洲[18]的方法,采用稻苗喷雾法进行筛选,将 97%噻嗪酮原药配置成所需浓度,用小型喷雾器对养虫笼中的水稻苗及灰飞虱进行喷雾筛选,使水稻植株叶片布满药剂,120 h 后记录死亡虫数.将存活的灰飞虱转移至新鲜无药的稻苗上饲养繁殖,每代进行抗性水平的生物监测.将处理的若虫置于(25±1) ℃培养箱内,进行常规饲养.筛选压力控制在死亡率 30%~70%.

1.2.2 生物测定方法　采用稻苗浸渍法[13].取 6 d 左右秧龄且无稻飞虱虫卵的武育粳 3 号稻苗连根一起在系列浓度的药液中浸 10 s,取出于阴凉处晾 30 min 至表面无明水,用湿脱脂棉包住根部保湿,置于指形管中.每处理 10~15 株,重复 3 次.以清水处理为对照.每支试管各接灰飞虱 3 龄若虫 20 头左右,用双层纱布扎口,1 h 后剔除受伤个体并补足 20 头.置于温度为(25±1) ℃、光周期为 16L∶8D 的培养箱中.3 d 后在脱脂棉上加适量水以防稻苗干枯.用毒死蜱处理 72 h 后;吡蚜酮、噻虫嗪、吡虫啉和啶虫脒处理 96 h 后;噻嗪酮处理 120 h 后检查结果[19],计算死亡率.并与对照的死亡率进行比较,计算校正死亡率.控制死亡率在 30%~70%.

1.2.3 抗性现实遗传力估算　采用 Tabashnik[20] 等的阈性状分析方法估算抗性现实遗传力(h^2):

$$h^2 = R/S$$

式中:R 为选择反应,即筛选亲本的子代与筛选前亲本间的平均表现型差异,由筛选前后的 LC_{50} 和筛选的代数 n 决定,计算公式为:$R=[\lg(\text{终 } LC_{50})-\lg(\text{始 } LC_{50})]/n$;$S$ 为选择差异($S=i\times\delta p$),是指用于筛选的亲本与整个亲本代之间的平均表现型差异,由药剂筛选后平均每代成活率 P 和筛选前后毒力回归线的斜率来决定,其中,选择强度 i 是根据公式 $i=1.583-0.0193336P+0.0000428P^2+3.65194/P$(当 $10\%\leqslant P\leqslant 80\%$ 时,P=100−平均校正死亡率)计算而得,表现型标准差 δp 是筛选前亲本毒力回归线的斜率(起始斜率)与 n 代筛选后子代毒力回归线的斜率(最终斜率)平均数的倒数,即 $\delta p=2/$(起始斜率+最终斜率).

采用 Tabashnik 等[21]抗性预报方法,由抗性现实遗传力 h^2,预测不同选择压抗性上升 10 倍所需的筛选代数.根据抗性现实遗传力,可以预测筛选后抗性上升 x 倍所需世代数:$G_x=\lg x/(h^2S)$.在不同选择压力下,抗性上升 10 倍所需的世代数:$G=1/h^2S$.

1.2.4 活体增效试验　在各浓度噻嗪酮溶液中分别加入 15 mg·L^{-1}PBO、DEM 和 TPP,再加入 50 μL 10% TritonX-100,按 **1.2.2** 稻苗浸渍法进行噻嗪酮毒力测定.将测定结果与不使用增效剂的测定结果相比较,计算增效比(synergistic ratio,SR).增效比=药剂单用时的 LC_{50} 值/用增效剂处理的 LC_{50} 值.

1.3　测定方法

酶液蛋白质含量采用考马斯亮蓝 G-250 法[22],以牛血清蛋白(BSA)为标准蛋白.酯酶活性测定参考 Han 等[23]方法,以反应速度表示酶活力 OD·min^{-1}·kg^{-1}pro.谷胱甘肽-S-转移酶活性测定参考 Oppenoorth[24]方法,以反应速度表示酶活力 OD·min^{-1}·kg^{-1}pro.细胞色素 P450 单加氧酶活力测定参考 Hansen 等[25]方法,以反应速度表示酶活力 OD·min^{-1}·kg^{-1}pro.

1.4　数据处理

生物测定用 Abbott 公式计算校正死亡率,采用 PoluPlus、DPS 软件计算毒理回归方程、LC_{50} 及 95%置信区间.所有数据均进行 t 测验和单因素方差分析,不同处理间的差异水平采用 Duncan 新复极差法进行比较分析($\alpha=0.05$).所有数据表示为平均数±标准差.抗性倍数(RR)=抗性种群的 LC_{50}/敏感种群的 LC_{50}.

2　结果与分析

2.1　噻嗪酮对灰飞虱抗性筛选结果

以采自山东泰安山东农业大学南校区实验站麦田的灰飞虱作为抗性筛选的原始种群,用室内饲养的第 2 代 3 龄若虫作为噻嗪酮抗性筛选的第 1 代.在 32 代饲养期间,用噻嗪酮筛选了 31 代,其 LC_{50} 从筛选前的 52.85 mg·L^{-1} 上升到 8905.17 mg·L^{-1},抗性上升了 168.49 倍(表 1).从图 1 抗性变化曲线可以看出,抗性水平随筛选浓度增加而升高,灰飞虱抗性倍数呈“S”型上升趋势.筛选 1~8 代抗性上升较缓慢,抗性倍数上升为 10.48 倍;9~28 代抗性上升迅速,抗性倍数上升到 163.97 倍;从 29~32 代,抗性倍数在 167 倍左右,抗性水平趋于稳定.

表 1 噻嗪酮对灰飞虱抗性筛选结果

Table 1 Resistance development of the susceptible population of *Laodelphax striatellus* to buprofezin

筛选代数 Selected generation	存活率 Survival rate (%)	95%置信区间 95%CL	斜率 Slope	LC_{50} (mg·L^{-1})	抗性倍数 Resistance ratio
F_0	–	40.30~69.92	0.83±0.08	52.85	0.00
F_1	57.5	45.63~82.49	1.14±0.14	62.42	1.18
F_2	63.6	47.38~89.01	1.06±0.14	66.11	1.25
F_3	76.5	104.45~211.88	0.98±0.14	143.88	2.72
F_4	64.2	195.78~367.72	1.08±0.14	262.35	4.96
F_5	71.2	251.21~519.61	1.02±0.14	345.45	6.54
F_6	65.7	297.64~680.51	0.97±0.14	421.23	7.97
F_7	58.4	327.09~1163.79	0.81±0.14	525.44	9.94
F_8	62.1	352.09~1273.79	0.82±0.08	553.85	10.48
F_9	52.3	690.08~7015.08	0.73±0.19	1326.99	25.11
F_{10}	58.6	896.92~4753.76	0.76±0.14	1595.05	30.18
F_{11}	61.7	1167.60~5615.69	0.78±0.15	2026.18	38.34
F_{12}	68.2	1977.31~5534.49	0.99±0.15	2957.32	55.95
F_{13}	57.5	2031.41~5698.82	0.92±0.15	3033.21	57.39
F_{14}	63.6	2305.57~8188.17	0.84±0.15	3666.38	69.37
F_{15}	76.5	2437.69~6838.59	0.92±0.15	3639.85	68.87
F_{16}	64.2	2635.38~8249.96	0.88±0.15	4054.30	76.71
F_{17}	71.2	3117.45~8950.10	0.89±0.15	4688.07	88.70
F_{18}	73.8	3683.20~9408.16	1.05±0.16	5334.39	100.93
F_{19}	69.7	3491.48~8591.93	0.96±0.15	5029.02	95.15
F_{20}	71.0	3952.27~11260.31	0.90±0.15	5929.47	112.19
F_{21}	62.7	4530.46~13380.91	0.93±0.16	6856.08	129.72
F_{22}	57.3	4566.46~10310.90	1.08±0.16	6384.46	120.80
F_{23}	66.2	4973.39~12096.86	1.05±0.16	7106.85	134.46
F_{24}	61.6	5322.77~11400.80	1.15±0.16	7312.36	138.35
F_{25}	67.9	5761.74~13782.50	1.06±0.16	8190.00	154.96
F_{26}	59.6	5739.08~13532.16	1.07±0.16	8123.17	153.69
F_{27}	64.8	5853.51~14336.48	0.93±0.15	8407.82	159.08
F_{28}	60.5	5890.43~15612.74	0.99±0.16	8666.16	163.97
F_{29}	58.2	6009.73~16155.48	0.92±0.15	8876.37	167.94
F_{30}	67.2	5930.49~16154.27	0.87±0.15	8822.59	166.93
F_{31}	54.9	6341.06~13926.83	1.03±0.15	8835.63	167.17
F_{32}	65.2	6126.79~15299.65	0.90±0.15	8905.17	168.49

抗性倍数 Resistance ratio = $LC_{50}(n)$/ $LC_{50}(F_0)$; CL: 置信区间 Confidence interval.

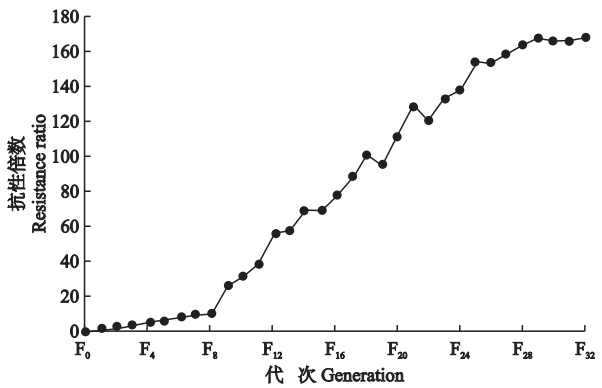


图 1 灰飞虱对噻嗪酮抗性曲线

Fig.1 Resistance curve of *Laodelphax striatellus* to buprofezin.

2.2 灰飞虱对噻嗪酮的抗性现实遗传力和发展速率预测

按照 Tabashnik[21] 的方法,计算在室内连续筛选 32 代后,灰飞虱对噻嗪酮抗性筛选过程中的平均每代选择反应和平均每代选择差异分别为 0.07 和 0.67,抗性现实遗传力 h^2 为 0.11.

根据试验所得抗性现实遗传力,假定室外自然种群在用药时的死亡率分别为 50%、60%、70%、80%、90%和 99%时,如果抗性提高 10 倍(假设选择前后毒力,回归线的平均斜率为 0.865,$\delta p = 1.156$,该假设的斜率与筛选前后的斜率相近),分别需要 10、9、7、6、5和2代,所需代数随选择压力的增加而

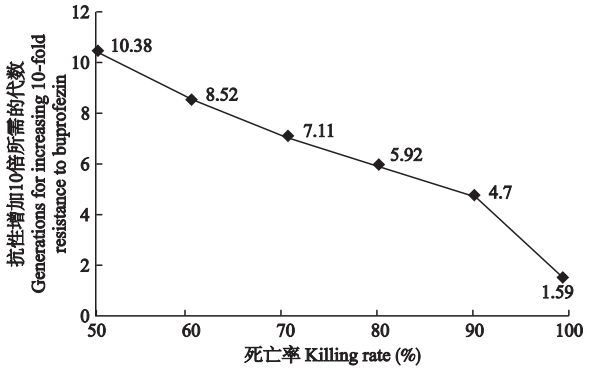


图 2　不同选择压力下灰飞虱对噻嗪酮抗性提高 10 倍所需代数

Fig.2　Generations for increasing 10-fold resistancee of *Laodelphax striatellus* to buprofezin under different selection pressures.

减少，抗性发展速率随噻嗪酮杀死率的提高而加快（图2）. 当h^2为0.11、杀死率为80%～90%时，预计灰飞虱对噻嗪酮的抗性增长 10 倍，仅需要 5～6 代.

2.3　灰飞虱抗噻嗪酮品系的抗性稳定性

经过 32 代抗性筛选获得抗性品系后，在不接触任何药剂的条件下连续饲养 10 代. 测定结果表明，抗性从 168.5 倍降低到 130.0 倍，抗性有下降，但仍然比较高，没有恢复到初筛选时的水平，而与筛选到 23 代时的 134.5 倍比较接近（表 2）.

2.4　灰飞虱抗噻嗪酮品系交互抗性

从表 3 可以看出，与 TAS 品系比较，TA-bup 品系对噻虫嗪（42.6 倍）和吡虫啉（34.4 倍）有高水平交互抗性，对啶虫脒（29.0 倍）有中等水平交互抗性，对吡蚜酮（1.2 倍）和毒死蜱（1.1 倍）无交互抗性. 与 TAF 品系比较，TA-bup 品系对吡虫啉（12.5 倍）有中等水平交互抗性，对噻虫嗪和啶虫脒抗性倍数分别为 8.6 和 7.7 倍，有低水平交互抗性，对吡蚜酮（1.0 倍）和毒死蜱（0.9 倍）无交互抗性.

表 2　灰飞虱噻嗪酮抗性品系的抗性稳定性

Table 2　Resistance stability of resistant strain of *Laodelphax striatellus*

筛选代数 Selected generation	95%置信区间 95%CL	斜率 Slope	LC_{50} (mg·L^{-1})	抗性倍数 Resistance ratio	抗性减退系数 Resistance reduce coefficient
TA-bup(32)	6126.79～15299.65	0.90±0.15	8905.17	168.49	–
TA-D(10)	4602.17～12991.86	0.97±0.16	6872.67	130.03	0.01
TA-bup(23)	4973.39～12096.86	1.05±0.16	7106.85	134.46	–

TA-bup(32)：利用噻嗪酮经过 32 代筛选所获得的品系 Resistant strains after 32-generation screening with buprofezin. 下同 The same below. TA-D(10)：抗性品系在不接触任何药剂的条件下连续饲养 10 代所获得的品系 Resistant strains without touching any pesticide after 10-generations. TA-bup(23)：利用噻嗪酮经过 23 代筛选所获得的品系 Resistant strains after 23-generation screening with buprofezin. 抗性减退系数 = [lg(终 LC_{50}) − lg(始 LC_{50})]/n，n 为无杀虫剂选择压力条件下饲养世代数 Resistance reduce coefficient = [lg(Final LC_{50}) − lg(Initial LC_{50})]/n, n was generations under the condition of no pesticide selection pressure.

表 3　灰飞虱噻嗪酮抗性品系交互抗性

Table 3　Cross-resistance spectrum of the buprofezin-selected TA-bup strain of *Laodelphax striatellus*

杀虫剂 Insecticide	品系 Strain	斜率 Slope	95%置信区间 95% confidence interval	LC_{50} (mg·L^{-1})	抗性倍数 Resistance ratio (TA-bup/TAS)	抗性倍数 Resistance ratio (TA-bup/TAF)
噻嗪酮	TAS	0.83±0.08	40.30～69.92	52.85	168.49	34.46
Buprofezin	TAF	1.04±0.15	189.51～366.63	258.45		
	TA-bup(32)	0.90±0.15	6126.79～15299.65	8905.17		
噻虫嗪	TAS	1.51±0.19	1.79～3.50	2.64	42.63	8.57
Thiamethoxam	TAF	1.19±0.15	10.02～17.46	13.11		
	TA-bup(32)	1.13±0.16	63.01～176.42	112.33		
吡虫啉	TAS	1.10±0.15	3.13～6.41	4.70	34.40	12.47
Imidacloprid	TAF	1.08±0.15	9.08～17.53	12.98		
	TA-bup(32)	1.30±0.16	124.26～225.02	161.80		
啶虫脒	TAS	0.53±0.15	0.17～5.57	2.32	29.03	7.72
Acetamiprid	TAF	0.72±0.15	4.21～13.73	8.71		
	TA-bup(32)	1.02±0.15	46.31～92.27	67.27		
吡蚜酮	TAS	0.97±0.15	6.07～13.61	9.66	1.17	1.03
Pymetrozine	TAF	1.02±0.15	7.25～15.12	10.96		
	TA-bup(32)	1.01±0.15	7.50～15.67	11.33		
毒死蜱	TAS	1.19±0.16	5.82～10.54	8.00	1.05	0.90
Chlorpyrifos	TAF	1.08±0.15	6.71～12.60	9.34		
	TA-bup(32)	1.10±0.15	6.00～11.29	8.41		

TAS：敏感品系 Susceptible strain；TAF：田间品系 Field strain. 下同 The same below.

表 4 增效剂在灰飞虱不同品系中对噻嗪酮的增效作用

Table 4 Synergism of TPP, DEM and PBO on buprofezin in different strains of *Laodelphax striatellus*

品系 Strain	增效剂 Synergist	斜率 Slope	95%置信区间 95% confidence interval	致死中浓度 LC_{50}(mg·L^{-1})	增效比 Synergism ratio
TAS	Buprofezin	0.83±0.08	40.30~69.92	52.85a	1.00
	Buprofezin+TPP	1.22±0.16	35.51~66.47	50.30a	1.05
	Buprofezin+DEM	1.14±0.15	37.61~74.68	54.21a	0.98
	Buprofezin+PBO	1.29±0.16	38.59~69.25	53.18a	0.99
TA-bup	Buprofezin	0.90±0.15	6126.79~15299.65	8905.17a	1.00
	Buprofezin+TPP	1.13±0.16	3621.80~7668.68	4964.42c	1.79
	Buprofezin+DEM	1.23±0.18	5694.17~13843.15	8100.29a	1.10
	Buprofezin+PBO	1.16±0.16	2694.92~5143.60	3595.20d	2.48
TA-D	Buprofezin	0.97±0.16	4602.17~12991.86	6872.67a	1.00
	Buprofezin+TPP	0.99±0.15	3037.78~6816.23	4267.87c	1.61
	Buprofezin+DEM	0.91±0.15	4165.65~12073.02	6275.01a	1.09
	Buprofezin+PBO	1.10±0.15	2577.37~5049.95	3477.26d	1.98
TAF	Buprofezin	1.08±0.14	195.78~367.72	262.35a	1.00
	Buprofezin+TPP	0.96±0.15	185.10~379.71	258.96a	1.01
	Buprofezin+DEM	1.01±0.15	175.09~343.39	241.37a	1.09
	Buprofezin+PBO	0.95±0.15	192.78~399.63	270.06a	0.97

TA-bup: 噻嗪酮抗性品系 Buprofezin resistant strain; TA-D: 抗性衰退品系 Recession-resistant strains. 同列不同字母表示差异显著($P<0.05$) Different letters in the same column meant significant difference at 0.05 level. 下同 The same below. TPP: 磷酸三苯酯 Triphenyl phosphate; DEM: 顺丁烯二酸二乙酯 Maleic Diethyl; PBO: 增效醚 Piperonyl butoxide.

2.5 增效剂在灰飞虱不同品系中对噻嗪酮的增效作用

利用 TAS、TA-bup、TA-D 和 TAF 品系分别测定 PBO、TPP 和 DEM 对噻嗪酮的增效作用.结果表明,在 TA-bup 和 TA-D 品系中,PBO 对噻嗪酮的增效倍数分别为 2.48 和 1.98 倍,增效作用最显著;TPP 对噻嗪酮的增效倍数分别为 1.79 和 1.61 倍,增效作用明显;DEM 对噻嗪酮的增效倍数分别为 1.10 和 1.09 倍,增效作用不明显.在 TAS 和 TAF 品系中,3 种增效剂对噻嗪酮均未表现出明显的增效作用(表 4).

表 5 灰飞虱不同品系的代谢酶活力

Table 5 Detoxification enzyme activities in different strains of *Laodelphax striatellus*

代谢酶/底物 Enzyme/substrate	品系 Strain	酶活 Enzyme activity	比率 Ratio
酯酶	TAS	36.16±6.11c	1.00
EST/α-NA	TA-bup	60.68±3.27a	1.68
	TA-D	51.96±2.12b	1.44
	TAF	47.38±2.69c	1.31
谷胱甘肽-s-转移酶	TAS	12.47±4.07a	1.00
GST/CDNB	TA-bup	17.46±3.53a	1.40
	TA-D	14.96±4.07a	1.20
	TAF	12.47±5.39a	1.00
细胞色素 P450 单加氧酶	TAS	97.44±3.36d	1.00
P450/ECOD	TA-bup	229.15±2.23a	2.35
	TA-D	200.15±2.04b	2.05
	TAF	143.81±2.07c	1.48

2.6 灰飞虱解毒酶在抗性中的作用

为明确灰飞虱解毒酶在抗性中的作用,测定了不同品系的细胞色素 P450 单加氧酶、酯酶和谷胱甘肽-S-转移酶的活力.结果表明,TA-bup 和 TA-D 的细胞色素 P450 单加氧酶活性最高,分别是 TAS 的 2.4 和 2.1 倍,TAF 的细胞色素单加氧酶活力是 TAS 的 1.5 倍;TA-bup 和 TA-D 的酯酶活性也明显升高,分别是 TAS 的 1.7 和 1.4 倍,TAF 的酯酶活力是 TAS 的 1.3 倍;谷胱甘肽-S-转移酶在各品系间没有表现出显著差异,TA-bup、TA-D 和 TAF 的酶活力分别为 TAS 的 1.4、1.2 和 1.0 倍(表 5).表明细胞色素 P450 单加氧酶活性升高对噻嗪酮抗性形成起着重要作用,酯酶活性上升也有一定作用.

3 讨 论

我国南方不同地区田间灰飞虱种群对噻嗪酮均产生了不同程度的抗药性[14-16].Zhang 等[17]利用噻嗪酮对采自云南楚雄的灰飞虱种群的抗性机理进行了研究.本研究用噻嗪酮筛选 32 代,获得 168.49 倍的灰飞虱抗性品系,筛选过程中灰飞虱对噻嗪酮的抗性水平呈现“S”型增长趋势,该结果与 Zhang 等[17]的筛选结果相似.Zhang 等[17]经过 42 代室内筛选,抗性增长 80.2 倍,本研究经过 32 代筛选,抗性增长 168.49 倍,抗性增长明显快于前者.分析原因,可能与多年来泰安灰飞虱种群田间大量使用杀虫剂防治,灰飞虱抗性等位基因频率提高有关.

灰飞虱对噻嗪酮的抗性现实遗传力为 0.11，杀死率为 80%～90%时，预计灰飞虱对噻嗪酮的抗性增长 10 倍，仅需要 5～6 代，存在灰飞虱对噻嗪酮快速产生抗性的风险.在田间环境下，影响抗性发展的因素较多，如昆虫迁移、用药不均匀等均不利于抗性发展，田间抗性的现实风险比实验室的要小，抗性发展速度会明显缓慢.灰飞虱抗性发展与选择压力有关，筛选压力应控制在死亡率为 30%～70%，以保证持续筛选.选择压力过高，筛选后代种群容易淘汰，无法继续筛选，选择压力过低，抗性发展缓慢，而且与大田用药选择压力相差太大[26-27]，选择合适的选择压是防控害虫的重要措施.

筛选到 32 代后停止筛选 10 代，抗性虽有一定下降，但仍然较高，很难恢复到筛选时的水平.抗性升高与细胞色素 P450 单加氧酶和酯酶活性提高有关.噻嗪酮抗性品系与噻虫嗪、吡虫啉、啶虫脒存在交互抗性.因此，应进行田间抗性监测，避免产生较高抗性，及时停用产生抗性或轮换使用其他没有产生交互抗性的杀虫剂，以延缓抗性发展，提高防治效果.

4　结　　论

用噻嗪酮连续筛选灰飞虱种群 32 代，抗性达到 168.49 倍.灰飞虱对噻嗪酮的抗性现实遗传力为 0.11，对噻嗪酮有产生较高抗性的风险.灰飞虱抗噻嗪酮品系与噻虫嗪、吡虫啉和啶虫脒存在交互抗性，与吡蚜酮和毒死蜱无交互抗性.细胞色素 P450 单加氧酶在灰飞虱对噻嗪酮抗性形成中发挥了重要作用.

参考文献

[1] Bai X-F (白雪峰), Wang Y-L (王延玲), Wang P (王　鹏). Research of Huanghuai summer corn area *Laodelphax striatellus* occurrence regularity. *Shandong Agricultural Sciences* (山东农业科学), 2010, **48**(3): 70-72 (in Chinese)

[2] Su J-D (苏加岱), Huang J-B (黄九柏), Liu H-S (刘汉舒). Huang-Huai river basin maize rough dwarf disease occurrence cause analysis and countermeasures. *Shandong Agricultural Sciences* (山东农业科学), 2009 (9): 59-61 (in Chinese)

[3] Wang R-F (王荣富), Cheng X-N (程遐年), Zou Y-D (邹运鼎). Impact of mixed damage of *Nilaparvata lugens* and *Sogatella furcifera* on vegetative growth of rice plants. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 1998, **9**(2): 181-185 (in Chinese)

[4] Peng S, Tang Q, Zou Y. Current status and challenge of rice production in China. *Plant Production Science*, 2009, **12**: 3-8

[5] Zhang A-M (张爱民), Liu X-D (刘向东), Zhai B-P (翟保平), *et al*. Influences of temperature on biological characteristics of the small brown planthopper, *Laodelphax striatellus* (Fallén) (Homoptera: Delphacidae). *Acta Entomologica Sinica* (昆虫学报), 2008, **51**(6): 640-645 (in Chinese)

[6] Yang H-L (杨海龙), Fu J (付　俊), Zhang L-L (张丽丽), *et al*. Occurrence and prevention of maize rough dwarf disease of Liaoning Province. *Seeds* (种子), 2014, **33**(3): 116-118 (in Chinese)

[7] He Y (贺　媛), Zhu Y-B (朱宇波), Hou Y-Y (侯洋旸), *et al*. Fluctuation and migration of spring population of small brown planthopper (*Laodelphax striatellus*) on wheat in Jiangsu and Zhejiang Provinces. *Chinese Journal of Rice Science* (中国水稻科学), 2012, **26**(1): 109-117 (in Chinese)

[8] Cheng Z-B (程兆榜), Yang R-M (杨荣明), Zhou Y-J (周益军), *et al*. New regularity of rice stripe virus occurred in Jiangsu rice area. *Jiangsu Agricultural Sciences* (江苏农业科学), 2002, **5**(1): 39-40 (in Chinese)

[9] Zhu L-F (朱龙粉), Fu K-X (傅可欣). Effect and strategy of chemical control *Laodelphax striatellus* in different growth stages of rice and different population quantity of *L. striatellus*. *Jiangsu Agricultural Sciences* (江苏农业科学), 2006, **8**(2): 62-64 (in Chinese)

[10] Liu J (刘　杰), Jiang Y-Y (姜玉英). Characteristic of corn diseases and pest in 2012 and cause analysis. *Chinese Agricultural Science Bulletin* (中国农学通报), 2014, **30**(7): 270-279 (in Chinese)

[11] Wang YH, Gao CF, Xu ZP, *et al*. Buprofezin susceptibility survey, resistance selection and preliminary determination of the resistance mechanism in *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae). *Pest Management Science*, 2012, **64**: 1050-1056

[12] Cohen E. Chitin biochemistry: Synthesis and inhibition. *Annual Review of Entomology*, 1987, **32**: 71-93

[13] Zhuang Y-L (庄永林), Shen J-L (沈晋良). A method for monitoring of resistance to buprofezin in brown planthopper. *Journal of Nanjing Agricultural University* (南京农业大学学报), 2000, **23**(3): 114-117 (in Chinese)

[14] Lin Y-W (林友伟), Lin M-Z (林美珍), Shen J-L (沈晋良). Rearing and susceptibility to four insecticides of the small brown planthopper. *Pesticides* (农药), 2004, **43**(11): 520-527 (in Chinese)

[15] Peng Y-Q (彭永强), Gao C-F (高聪芬), Ma C-Y (马崇勇), *et al*. Risk assessment and genetic analysis of fipronil resistance and insecticide susceptibility in the small brown planthopper, *Laodelphax striatellus* (Homoptera: Delphacidae). *Chinese Journal of Rice Science* (中国水稻科学), 2009, **23**(6): 645-652 (in Chinese)

[16] Wang L-H (王利华), Fang J-C (方继朝), Liu B-S (刘宝生). Relative toxicity of insecticides to *Laodelphax striatellus* (Fallén) (Homoptera: Delphacidae)

and the resistance of field populations from different areas of East China. *Acta Entomologica Sinica* (昆虫学报), 2008, **51**(9): 930-937 (in Chinese)

[17] Zhang YL, Guo HF, Yang Q, *et al*. Over expression of a P450 gene (CYP6CW1) in buprofezin-resistant *Laodelphax striatellus* (Fallén). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2012, **104**: 277-282

[18] Wang Y-Z (王耀洲), Han Z-J (韩召军). Fipronil resistance in small brown planthopper *Laodelphax striatellus* (Fallén) and mechanisms. *Journal of Nanjing Agricultural University* (南京农业大学学报), 2010, **33**(4): 49-54 (in Chinese)

[19] Ma C-Y (马崇勇), Gao C-F (高聪芬), Wei H-J (韦华杰), *et al*. Resistance and susceptibility to several groups of insecticides in the small brown planthopper, *Laodelphax striatellus* (Homoptera: Delphacidae). *Chinese Journal of Rice Science* (中国水稻科学), 2007, **21**(5): 555-558 (in Chinese)

[20] Tabashnik BE, Mc Ganghey WH. Resistance risk assessment for single and multiple insecticides: Responses of Indian meal moth (Lepidoptera: Pyralidae) to *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Economic Entomology*, 1994, **87**: 834-841

[21] Tabashnik BE. 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). *Journal of Economic Entomology*, 1992, **85**: 1551-1559

[22] Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytic Biochemistry*, 1976, **72**: 248-254

[23] Han ZJ, Moorses GD, Devonshire AL, *et al*. Association between biochemical markers and insecticide resistance in the cotton aphid, *Aphis gossypi*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 1998, **62**: 164-171

[24] Oppenoorth FJ. Glutathione-S-transferase and hydrolytic activity in a tetrachlorvinphos resistant strain of house fly and their influence on resistance. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 1979, **11**: 176-188

[25] Hansen LG, Hodgson H. Biochemical characteristics of insect microsomes N- and O-demethylation. *Biochemical Pharmacology*, 1971, **20**: 1569-1573

[26] Jia B-T (贾变桃), Shen J-L (沈晋良), Liu Y-J (刘永杰). Monitoring and risk assessment of resistance to tebufenozide in *Spodoptera exigua*. *Cotton Science* (棉花学报), 2006, **18**(3): 164-169 (in Chinese)

[27] Wen H-Q (文汉卿), Shi J (史 俊), Xun H (寻昊), *et al*. Distribution, dissemination and removal of antibiotic resistant genes (ARGs) in the aquatic environment. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2015, **26**(2): 625-635 (in Chinese)

作者简介 毛旭连,女,1989 年生,硕士研究生. 主要从事昆虫毒理学研究. E-mail: maoxulian99@126.com

责任编辑 肖 红

毛旭连, 刘锦, 李许可, 等. 灰飞虱对噻嗪酮的抗性风险及机理. 应用生态学报, 2016, **27**(1): 255-262
Mao X-L, Liu J, Li X-K, *et al*. Resistance risk, cross-resistance and biochemical resistance mechanism of *Laodelphax striatellus* to buprofezin. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2016, **27**(1): 255-262 (in Chinese)