海南地区小菜蛾对氯虫苯甲酰胺和乙基多杀菌素的抗药性变化趋势*

梁延坡** 谢圣华*** 符尚娇 秦 双 陈海燕 严春雨 林珠凤

(海南省农业科学院植物保护研究所, 海南省植物病虫害防控重点实验室, 海口 571100)

摘要 【目的】为了明确海南地区小菜蛾 *Plutella xylostella* (L.) 对氯虫苯甲酰胺和乙基多杀菌素的抗性现状和抗性发展趋势, 为制定有效的化学防治措施及抗性治理策略提供参考。【方法】本文采用叶片浸渍法, 测定了海南海口、三亚两个地区小菜蛾田间种群 2011—2014 年度对 2 种药剂的抗药性水平。【结果】结果表明: 自 2011 年以来, 海口地区小菜蛾种群对氯虫苯甲酰胺的抗性倍数从 2011 年的 0.95 倍, 突然发展为 2012 年的 303.18 倍, 2013 年下降为 61.37 倍, 2014 年又上升为 92.41 倍, 年度间波动较大; 三亚地区的抗性倍数由 2011 年的 1.16 倍, 逐年上升为 2012 年的 44.00 倍, 2013 年的 51.22 倍和 2014 年度的 120.62 倍, 年度间抗性持续上升, 达到高抗性水平。海口地区小菜蛾对乙基多杀菌素的抗性倍数从 2012 年的 1.19 倍, 发展为 2013 年的 29.35 倍和 2014 年的 30.25 倍, 达到中等抗性水平; 三亚地区的抗性倍数由 2012 年的 4.43 倍, 逐年上升为 2013 年的 30.48 倍和 2014 年度的 54.96 倍, 年度间抗性持续上升。【结论】海南地区小菜蛾对乙基多杀菌素和氯虫苯甲酰胺均已产生中等水平或高水平的抗药性, 抗药性呈现持续上升的趋势。这可能与两个地区的用药环境和用药习惯有关。田间防治时, 应减少两种药剂的使用次数, 注意轮换其它药剂。

关键词 小菜蛾, 氯虫苯甲酰胺, 乙基多杀菌素, 抗药性

Changing trends of resistance to chlorantraniliprole and spinetoram in a wild population of *Plutella xylostella* in Hainan Province

LIANG Yan-Po** XIE Sheng-Hua*** FU Shang-Jiao QIN Shuang
CHEN Hai-Yan YAN Chun-Yu LIN Zhu-Feng

(Institute of Plant Protection of Hainan Academy of Agricultural Sciences, Hainan Key Laboratory for Control of Plant Diseases and Insect Pests, Haikou 571100, China)

Abstract [Objectives] To investigate levels of insecticide resistance in different *Plutella xylostella* (L.) populations in Hainan Province, and thereby improve both the chemical control of this pest and management of insecticide resistance. [Methods] Samples of *P. xylostella* populations from the Haikou and Sanya area were collected between 2011 and 2014 and their resistance to chlorantraniliprole and spinetoram assayed using the leaf-dip bioassay method. [Results] The results show that the resistance level of the Haikou population to chlorantraniliprole increased from 0.95 to 303.18 fold during 2011–2012, then fell to 61.37 fold in 2013 and to 92.41 fold in 2014. Resistance levels in the Sanya population tended to increase yearly, with the resistance index increasing from 1.16 in 2011 to 44.00 in 2012, to 51.22 in 2013, and to 120.62 in 2014. The resistance levels of Hainan populations of *P. xylostella* to spinetoram were moderate, the resistance index of the Haikou population increasing from 1.19 in 2012 to 29.35 in 2013, and to 30.25 in 2014, and that of the Sanya population increasing from 4.43 in 2012, to 30.48 in 2013, then to 54.96 in 2014. [Conclusion] Resistance levels of Hainan populations of *P. xylostella* to spinetoram and chlorantraniliprole generally tended to increase over time, eventually becoming moderate, or high.

*资助项目 Supported projects: 公益性行业(农业)科研专项(201103021); 国家科技支撑计划(2012BAD19B06-07)

**第一作者 First author, E-mail: liangyp2008@163.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: shxie123@263.net

收稿日期 Received: 2016-01-19, 接受日期 Accepted: 2016-02-27

Differences in resistance levels between *P. xylostella* populations in Hainan may be attributed to differences in the environment and local methods of insecticide use. The application of both insecticides should be reduced and more emphasis should be placed on using them in rotation with other insecticides.

Key words *Plutella xylostella*, chlorantraniliprole, spinetoram, resistance

小菜蛾 *Plutella xylostella* (L.) 是世界性十字花科蔬菜的主要害虫之一, 具有抗药性发展速度快, 抗药谱广, 防治困难的特点(赵建周等, 1996)。小菜蛾在海南地区周年发生, 世代重叠严重, 发生量大, 在局部地区造成严重减产甚至绝收, 对十字花科蔬菜生产造成巨大损失(王纪文等, 1991), 由于长期依赖化学农药进行防治, 小菜蛾对许多常规药剂都产生了抗药性(Talekar and Shelton, 1993; 陈之浩和程罗根, 2000; 吴青君等, 2001)。导致大部分农药品种使用寿命缩短进而被淘汰, 甚至无药可用, 这给小菜蛾的化学防治带来了很大的压力。

氯虫苯甲酰胺(Chlorantraniliprole)和乙基多杀菌素(Spinetoram)是两种对鳞翅目害虫具有良好防效的药剂。氯虫苯甲酰胺是由美国杜邦公司开发的一种作用于昆虫鱼尼丁受体的新型邻酰胺基苯甲酰胺类广谱杀虫剂(杨桂秋等, 2012), 而乙基多杀菌素是由美国陶氏益农公司开发的一种作用于昆虫的神经系统的新型多杀菌素类杀虫剂(杜静等, 2010), 近几年作为治理抗性小菜蛾的高效药剂, 在我国各省蔬菜种植产区大面积推广应用。

为及时掌握海南小菜蛾对氯虫苯甲酰胺和乙基多杀菌素抗药性的发展动态, 自2011年始, 我们针对海南十字花科蔬菜主产区进行小菜蛾对氯虫苯甲酰胺和乙基多杀菌素的抗药性监测, 结果发现, 小菜蛾对这两种药剂的抗药性水平在逐年上升, 我们对这4年来抗性监测结果进行总结, 分析小菜蛾对氯虫苯甲酰胺和乙基多杀菌素抗性发展的特点和原因, 旨在为制定科学合理用药措施、延长药剂的使用寿命和延缓抗药性的产生提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试虫源: 小菜蛾敏感种群由北京中国蔬菜

花卉研究所提供, 2004年于福建省福州郊区田间甘蓝地采集, 在室内不接触药剂连续饲养。田间种群: 采集田间3~4龄的幼虫或蛹, 蛹直接保存于4℃冰箱, 而高龄幼虫在实验室内用甘蓝继代饲养, 待其化蛹后与先前保存的蛹一同羽化。待成虫将要羽化时放入养虫笼中, 成虫喂以10%的蜂蜜水, 下面放甘蓝苗接卵。饲养条件温度(25±1)℃、相对湿度50%~70%、光周期16L:8D。海口田间小菜蛾种群采自海口市苍东村白菜田, 三亚种群采自三亚吉阳镇荔枝沟师部农场抱坡村菜心田, 以室内F₁和F₂代的3龄幼虫进行毒力测定。

供试药剂: 5.22%氯虫苯甲酰胺乳油, 由广东省农业科学院植物保护研究所提供; 6%乙基多杀菌素SC, 美国陶氏益农公司生产。

1.2 毒力测定方法

采用叶片浸渍法(Shelton *et al.*, 1993)。先进行预备试验, 然后根据预备试验的结果, 以校正死亡率在10%~90%的浓度范围作为正式试验的浓度范围, 然后将供试药剂按等比级数稀释法配成5~7个系列浓度, 供正式试验用, 以含0.05%曲拉通(Triton X-100)(vol:vol)的水溶液进行浓度稀释并作为对照。取新鲜甘蓝苗嫩叶片, 打孔(直径6cm), 分别在供试药剂各浓度药液中浸渍约10s, 取出自然晾干后, 放入直径6cm培养皿中(垫滤纸保湿), 并分别接入供试小菜蛾3龄幼虫, 每处理4次重复, 每重复接虫15头。之后, 放入光照培养箱中饲养。饲养温度为(25±1)℃, 光周期L:D=16:8, 相对湿度70%。48h后调查幼虫死亡情况, 幼虫死亡标准为: 用毛笔尖轻触试虫虫体, 无明显自主反应者为死亡。若空白对照死亡率在10%以上, 则需重复试验。

1.3 数据处理方法

数据处理采用POLO软件, 计算出毒力回归

方程、 LC_{50} 值及 95% 的置信限。抗性倍数 (RR) 以抗性种群的 LC_{50} 值和敏感种群的 LC_{50} 值的比值作为衡量抗性的大小。以同种群 2011 年的 LC_{50} 值作为参照, 计算不同年度间的抗性比值, 得出年度间的抗药性变化发展趋势 (尹艳琼等, 2014)。

小菜蛾的抗药性分级标准参照行业标准 -NY/T2360-2013 (邵振润等, 2013): 抗性倍数 (RR) < 10 为低水平抗性, 10 RR < 100 为中等水平抗性, RR $\geq$ 100 为高水平抗性。

2 结果与分析

2.1 小菜蛾对氯虫苯甲酰胺和乙基多杀菌素的相对敏感基线

在室内建立了敏感种群, 以敏感种群的 LC_{50} 值作为各杀虫剂的敏感基线, 结果见表 1。由表 1 可以看出, 小菜蛾对新药剂氯虫苯甲酰胺、乙基多杀菌素的敏感基线分别为: 0.5503 mg/L 和 0.089 mg/L, 两者 LC_{50} 值差异显著。

2.2 不同地区小菜蛾对氯虫苯甲酰胺的抗性监测结果

由表 2 可以看出, 2011—2014 年间, 海南地区小菜蛾对氯虫苯甲酰胺的抗药性呈现不断上升的趋势。2011 年, 海口和三亚 2 个监测点的小菜蛾对氯虫苯甲酰胺表现比较敏感, LC_{50} 值分别为 0.521 mg/L 和 0.637 mg/L, 抗性倍数分别为 0.95 和 1.16, 均处于低水平抗性; 2012 年, 海口种群小菜蛾的 LC_{50} 值为 166.839 mg/L, 抗性倍数上升为 303.18 倍, 达到高水平抗性, 三亚种群小菜蛾的 LC_{50} 值为 24.211 mg/L, 抗性倍数上升为 44.00 倍, 达到中等水平抗性; 2013 年, 海口小菜蛾对氯虫苯甲酰胺的敏感性较 2012 年下降为 33.772 mg/L, 抗性倍数下降为 61.37 倍, 三亚种群小菜蛾的 LC_{50} 值则略有增大为 28.186 mg/L, 抗性倍数达 51.22 倍; 2014 年, 海口种群小菜蛾的 LC_{50} 值为 50.855 mg/L, 抗性倍数上升为 92.41 倍, 三亚种群的 LC_{50} 值为 66.378 mg/L, 抗性倍数持续上升为 120.62 倍, 达到高水平抗性标准。

表 1 海南地区小菜蛾对 2 种新药剂的相对敏感基线

Table 1 The sensitivity baseline of 2 insecticides against *Plutella xylostella*

杀虫剂 Insecticides	致死中浓度 LC_{50} (mg/L)	斜率±标准误 Slope±SE	95%置信区间 95% confidence limit
氯虫苯甲酰胺 Chlorantraniliprole	0.5503	2.224±0.263	0.441-0.684
乙基多杀菌素 Spinetoram	0.089	1.794±0.209	0.068-0.113

表 2 海南地区小菜蛾对氯虫苯甲酰胺的抗药性 (2011—2014)

Table 2 Resistance to chlorantraniliprole in field populations of *Plutella xylostella* from Hainan Province (2011-2014)

种群 Population	年份 Year	致死中浓度 LC_{50} (mg/L)	斜率±标准误 Slope±SE	95%置信区间 95% confidence limit	抗性倍数 Resistance index	抗性比值 Resistance ratio
海口 Haikou	2011	0.521	1.945±0.205	0.412 - 0.653	0.95	1.00
	2012	166.839	1.598±0.199	99.363 - 323.536	303.18	320.23
	2013	33.772	1.556±0.194	25.859 - 44.380	61.37	64.82
	2014	50.855	1.262±0.238	35.841 - 77.353	92.41	97.61
三亚 Sanya	2011	0.637	1.900±0.207	0.448 - 0.893	1.16	1.00
	2012	24.211	1.629±0.291	13.477 - 34.377	44.00	38.01
	2013	28.186	1.804±0.215	22.181 - 37.089	51.22	44.25
	2014	66.378	3.160±0.746	53.354 - 95.960	120.62	104.20

综上所述,自 2011 年以来,海南地区的小菜蛾对氯虫苯甲酰胺的抗性呈现持续上升的趋势,两个地区差异较大。其中,海口地区其抗性倍数从 2011 年的 0.95 倍,突然发展为 2012 年的 303.18 倍,2013 年下降为 61.37 倍,2014 年又上升为 92.41 倍,达中等水平抗性,年度间波动较大;三亚地区的抗性倍数由 2011 年的 1.16 倍,逐年上升为 2012 年的 44.00 倍,2013 年的 51.22 倍和 2014 年度的 120.62 倍,达高抗性水平,年度间抗性持续上升。

2.3 不同地区小菜蛾对乙基多杀菌素的抗性监测结果

由表 3 可以看出,2012—2014 年间,海南地区小菜蛾对乙基多杀菌素的抗药性也呈现不断上升的趋势。2012 年,海口和三亚 2 个监测点的小菜蛾对乙基多杀菌素表现比较敏感,LC₅₀ 值分别为 0.106 mg/L 和 0.394 mg/L,抗性倍数分

别为 1.19 倍和 4.43 倍,均处于低水平抗性;2013 年,海口种群小菜蛾的对乙基多杀菌素的 LC₅₀ 值为 2.612 mg/L,抗性倍数上升为 29.35 倍,达到中等水平抗性;三亚种群小菜蛾的 LC₅₀ 值为 2.713 mg/L,抗性倍数上升为 30.48 倍;2014 年,海口种群小菜蛾的 LC₅₀ 值为 2.692 mg/L,抗性倍数上升为 30.25 倍,三亚种群的 LC₅₀ 值为 4.891 mg/L,抗性倍数持续上升为 54.96 倍,达到中等水平抗性。

综上所述,自 2012 年以来,海南地区的小菜蛾对乙基多杀菌素的抗性呈现持续上升的趋势,达中等水平抗性标准。其中,海口地区其抗性倍数从 2012 年的 1.19 倍,发展为 2013 年的 29.35 倍、2014 年的 30.25 倍,2013 年度和 2014 年度抗性变化不大;三亚地区的抗性倍数由 2012 年的 4.43 倍,逐年上升为 2013 年的 30.48 倍和 2014 年的 54.96 倍,年度间抗性持续上升。

表 3 海南地区小菜蛾对乙基多杀菌素的抗药性 (2012—2014)

Table 3 Resistance to spinetoram in field populations of *Plutella xylostella* from Hainan Province (2012-2014)

种群 Population	年份 Year	致死中浓度 LC ₅₀ (mg/L)	斜率±标准误 Slope±SE	95%置信区间 95% confidence limit	抗性倍数 Resistance index	抗性比值 Resistance ratio
海口 Haikou	2012	0.106	1.676±0.210	0.061 - 0.170	1.19	1.00
	2013	2.612	1.730±0.189	1.804 - 3.656	29.35	24.64
	2014	2.692	1.188±0.239	1.317 - 4.039	30.25	25.40
三亚 Sanya	2012	0.394	1.234±0.198	0.160 - 0.651	4.43	1.00
	2013	2.713	1.548±0.165	2.089 - 3.509	30.48	6.89
	2014	4.891	1.916±0.263	3.856 - 6.464	54.96	12.41

3 结论与讨论

抗药性监测是科学评价抗性治理策略、指导田间合理使用药剂的基础。通过抗药性监测可以及时准确的监测靶标害虫的抗性水平及其分布,制定科学合理的抗性治理策略,延长药剂的使用寿命(张友军和姜辉,1998;冯夏等,2011)。本研究对海南地区小菜蛾对氯虫苯甲酰胺的抗药性进行了监测,通过 2011—2014 年连续 4 年的监测,证实海南地区小菜蛾对氯虫苯甲酰胺的已经产生高水平的抗药性(2012 年度海口地区产生了 303.18 倍的高水平抗性),其抗药性年度

间波动较大,海口地区 2013—2014 年的抗性倍数是 2011 年的 64.82~97.61 倍,三亚地区 2012—2014 年的抗性倍数为 2011 年抗性的 38.01~104.20 倍,整体呈现持续上升的趋势,达高水平抗性。广州增城菜区小菜蛾当代和 F₁ 代虫源的抗性倍数分别为 606 倍和 454.94 倍的极高抗性水平,且抗性上升趋势明显(胡珍娣等,2010,2012)。云南小菜蛾种群对氯虫苯甲酰胺连续 5 年抗性监测数据表明:云南主要菜区小菜蛾种群对氯虫苯甲酰胺的抗药性在逐年增加,已由低水平抗性发展到中等水平抗性,特别是滇中通海菜区的 LC₅₀ 值呈成倍增加趋势,2011 年和

2012 年的抗性倍数分别是 2009 年的 8.98 倍和 20.77 倍(尹艳琼等, 2014)。这些都证明了小菜蛾对氯虫苯甲酰胺有产生高抗性的风险。

乙基多杀菌素是作用于昆虫烟碱型乙酰胆碱受体和 γ -氨基丁酸受体的新型杀虫剂, 其独特的作用机理使其成为目前市场上防治抗性害虫的潜力新型杀虫药剂。乙基多杀菌素可以有效的防治小菜蛾等鳞翅目害虫。目前还没有关于小菜蛾对乙基多杀菌素抗药性的报道。本研究发现, 2012—2014 年间, 海口地区的小菜蛾对乙基多杀菌素菌素的 LC_{50} 由 2012 年的 0.106 mg/L 逐年增大为 2014 年的 2.692 mg/L, 抗性倍数增长了 25.4 倍, 达到 30.25 倍的中等水平抗性; 三亚地区的小菜蛾 LC_{50} 由 2012 年的 0.394 mg/L 增大为 2014 年的 4.891 mg/L, 抗性倍数增长了 12.4 倍, 达到 54.96 倍的中等水平抗性; 证明在田间持续的选择压力下, 小菜蛾对乙基多杀菌素也具有产生高抗性的风险。

害虫抗药性的发展和当地的用药环境、栽培模式、用药习惯等密切相关。研究表明, 抗药性与用药次数和选择压密切相关(胡珍娣等, 2010; 冯夏等, 2011)。本研究所采集的小菜蛾监测点均属于海南十字花科蔬菜连片连作区, 菜农对新药接受能力较强, 用药频繁, 普遍采用氯虫苯甲酰胺和乙基多杀菌素进行鳞翅目小菜蛾及其它害虫的防治, 这可能是导致小菜蛾对其抗药性逐年成倍增加原因。在田间防治中, 为延缓小菜蛾对抗药性的发展, 应尽量选用交互抗性较低或未表现交互抗性的杀虫剂进行轮换用药, 严格限制施药次数。

参考文献(References)

- Chen ZH, Chen LG, 2000. Current status and prospect of the study on resistance to diamondback moth (*Plutella xylostella* L.). *Entomological Knowledge*, 37(2): 103–107. [陈之浩, 程罗根. 小菜蛾抗药性研究的现状及展望. 昆虫知识, 37(2): 103–107.]
- Du J, Liu CX, Wang XJ, Xiang WS, 2010. A novel green insecticide: spinetoram. *World Pesticides*, 32(4): 55–58. [杜静, 刘重喜, 王相晶, 向文胜. 新颖绿色杀虫剂-spinetoram. 世界农药, 32(4): 55–58.]
- Feng X, Li ZY, Wu QJ, Chen AD, Wu YD, Hou YM, He YR, 2011. Research progress of the resistance management and sustainable control of diamondback moth (*Plutella xylostella*) in China. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 48(2): 247–253. [冯夏, 李振宇, 吴青君, 谌爱东, 吴益东, 侯有明, 何余容, 2011. 小菜蛾抗性治理及可持续防控技术研究示范. 应用昆虫学报, 48(2): 247–253.]
- Hu ZD, Chen HY, Li ZY, Zhang DY, Yin F, Lin QS, Bao HL, Zhou XM, Feng X, 2012. Found a field population of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.), with high-level resistance to chlorantraniliprole in South China. *Guangdong Agricultural Sciences*, 39(1): 79–81. [胡珍娣, 陈焕瑜, 李振宇, 张德雍, 尹飞, 林庆胜, 包华理, 周小毛, 冯夏, 2012. 华南小菜蛾田间种群对氯虫苯甲酰胺已产生严重抗性. 广东农业科学, 39(1): 79–81.]
- Hu ZD, Feng X, Li ZY, Zhang DY, Chen HY, 2010. Studies on the susceptibility of diamondback moth (DBM), *Plutella xylostella* L. to chlorantraniliprole in different vegetable fields. *Agrochemicals Research & Application*, 14(3): 25–27. [胡珍娣, 冯夏, 李振宇, 张德雍, 陈焕瑜, 2010. 不同小菜蛾田间种群对氯虫苯甲酰胺药剂的敏感性. 农药研究与应用, 14(3): 25–27.]
- Shao ZY, Feng X, Zhang S, Li ZY, Huang JD, Chen HY, Hu ZD, 2013. NY/T2360—2013, Guideline for insecticide resistance monitoring of *Plutella xylostella*(L.) on cruciferous vegetables. China Agriculture Press. [邵振润, 冯夏, 张帅, 李振宇, 黄军定, 陈焕瑜, 胡珍娣, 2013. NY/T2360—2013, 十字花科小菜蛾抗药性监测技术规程. 北京: 中国农业出版社.]
- Shelton AM, Robertson JL, Tang JD, Perez CJ, Eigenbrode SD, Preisler HK, 1993. Resistance of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) to *Bacillus thuringiensis* subspecies in the field. *Journal of Economic Entomology*, 86(3): 697–705.
- Talekar NS, Shelton AM, 1993. Biologyecology and management of the diamondback moth. *Annu. Rev. Entomol.*, 38: 275–301.
- Wang JW, Wu HS, Lin Y, 1991. The biology and control of the diamondback moth. *Natural Science Journal of Hainan University*, 9(4): 41–48. [王纪文, 伍海森, 林钰, 1991. 小菜蛾在海南的生物学与防治的研究. 海南大学学报自然科学版, 9(4): 41–48.]
- Wu QJ, Zhang WJ, Zhu GR, 2001. The characteristics and resistance to insecticide in diamond back moth. *China Vegetables*, (5): 49–51. [吴青君, 张文吉, 朱国仁, 2001. 小菜蛾的发生危害特点及抗药性现状. 中国蔬菜, (5): 49–51.]
- Yang GQ, Tong YC, Yang HB, Yu HB, Li B, 2012. Summary of chlorantraniliprole: a nevol insecticide. *World Pesticides*, 34(1): 31–34. [杨桂秋, 童怡春, 杨辉斌, 于海波, 李斌. 新型杀虫剂氯虫苯甲酰胺研究概述. 世界农药, 34(1): 31–34.]

- Yin YQ, Zhao XQ, Chen AD, Li XY, Wu QJ, Zhang YJ, 2014. Changing trends of resistance of *Plutella xylostella* field population to chlorantraniliprole in Yunnan Province. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 16(6): 746–750. [尹艳琼, 赵雪晴, 谌爱东, 李向永, 吴青君, 张友军. 2014. 云南省小菜蛾田间种群对氯虫苯甲酰胺的抗药性变化趋势. *农药学报*, 16(6): 746–750.]
- Zhang YJ, Jiang H, 1998. Advance in the monitoring technique of pest resistance. *Pesticide Science and Administration*, 19(1): 22–23. [张友军, 姜辉, 1998. 杀虫剂抗性监测技术研究进展. *农药科学与管理*, 19(1): 22–23.]
- Zhao JZ, Wu SC, Gu YZ, Zhu GR, Ju ZL, 1996. Strategy of insecticide resistance management in the diamondback moth. *Scientia Agricultura Sinica*, 29(1): 8–14. [赵建周, 吴世昌, 顾言真, 朱国仁, 剧正理, 1996. 小菜蛾抗药性治理对策研究. *中国农业科学*, 29(1): 8–14.]