

朱砂叶螨抗药性监测^{*}

陈秋双 赵舒 邹晶 石力 何林^{**}

(西南大学植物保护学院 重庆 400716)

摘 要 本文采用药膜法建立了朱砂叶螨 *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) 对 5 种杀螨剂的敏感基线, 并对 6 个不同地理种群的朱砂叶螨进行了抗药性监测, 结果表明: 5 种药剂杀螨活性由高到低分别为阿维菌素 > 丁氟螨酯 > 氧化乐果 > 炔螨特 > 甲氧菊酯, 其对朱砂叶螨雌成螨的 LC_{50} 值分别为 0.08、2.19、67.89、201.19 和 605.27 mg/L; 朱砂叶螨各地理种群已对甲氧菊酯和炔螨特产生了低、中水平的抗性, 其抗性倍数分别介于 2.93 ~ 16.22 与 4.85 ~ 14.35 之间, 其中云南种群对这 2 种杀螨剂抗性最高, 对氧化乐果与丁氟螨酯处于敏感性降低阶段, 其抗性倍数分别介于 2.35 ~ 4.26 与 1.56 ~ 2.11 之间, 对阿维菌素还未产生明显抗性; 对阿维菌素和甲氧菊酯的增效剂生物测定结果表明, 三类解毒酶系(多功能氧化酶、谷胱甘肽 S-转移酶和酯酶)都不同程度地参与了朱砂叶螨抗药性的形成。

关键词 朱砂叶螨, 敏感基线, 抗药性, 增效剂

Monitoring of acaricide resistance in *Tetranychus cinnabarinus*

CHEN Qiu-Shuang ZHAO Shu ZOU Jing SHI Li HE Lin^{**}

(College of Plant Protection, Southwest University, Chongqing 400716, China)

Abstract The baseline sensitivity of 5 acaricides against *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) was established and the resistance level of 6 different field strains of *T. cinnabarinus* to these acaricides monitored using the residual contact vial method. The results show that the relative toxicity of the 5 acaricides to *T. cinnabarinus* was, abamectin > cyflumetofen > omethoate > propargite > fenpropathrin. The LC_{50} of female adults were 0.080 mg/L, 2.19 mg/L, 67.89 mg/L, 201.19 mg/L and 605.27 mg/L, respectively. The 6 field strains developed 2.93 – 16.22 fold resistance to fenpropathrin and 4.85 – 14.35 fold resistance to propargite. Of the 6 strains tested, the Yunnan strain showed the highest resistance to both acaricides. The six field strains displayed lower sensitivity to cyflumetofen and omethoate, developing 1.56 – 2.11 and 2.35 – 4.26 fold resistance, to these pesticides respectively. No strains developed significant resistance to abamectin. The effects of synergists in susceptible and resistant strains (abamectin-resistant and fenpropathrin-resistant strains) were tested. The results show that three detoxification enzymes (PBO, GSTs and Esterases) contributed, to different degrees, to the resistance of *T. cinnabarinus* to acaricides.

Key words *Tetranychus cinnabarinus*, sensitivity baseline, resistance, synergists

朱砂叶螨 *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) 是常见的一种农业害螨, 在世界上分布范围广泛, 能够为害多种作物 (Stumpf and Nauen, 2001; 何林等, 2005; He *et al.*, 2009)。由于化学杀螨剂的大量使用以及朱砂叶螨世代周期短、活动范围小和近亲交配率高等特点, 致使其容易对杀螨剂产生抗药性。国内外对朱砂叶螨的

姊妹种二斑叶螨的抗药性情况报道较多, 而对朱砂叶螨的抗药性, 尤其是不同地理种群对杀螨剂的抗药性情况报道较少。

本文监测了朱砂叶螨 6 个不同地理种群对 5 种杀螨剂的抗药性水平, 利用增效剂生物测定方法研究了解毒酶系在朱砂叶螨抗药性形成中的作用, 以期掌握朱砂叶螨对常用杀螨剂的抗性水

^{*} 资助项目: 公益性行业(农业)科研专项(200903033)、国家自然科学基金项目(31071984)、教育部创新团队支持计划(IRT0976)。

^{**} 通讯作者, E-mail: helinok@vip.tom.com

收稿日期: 2012-01-17, 接受日期: 2012-02-27

平及发展状况、了解抗药性产生的生化机理、指导朱砂叶螨的合理化学防治、延缓抗性发展等提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

室内种群:敏感品系(S),将采自重庆市北碚区田间并在室内不接触任何药剂情况下以盆栽新鲜豇豆苗饲养 200 代(约 10 年)左右的朱砂叶螨作为敏感品系来源;甲氰菊酯抗性品系(FeR),由同源的相对敏感品系分出一亚品系,经 100 代左右的室内抗性选育而成;阿维菌素抗性品系(AbR),由同源的相对敏感品系分出一亚品系,经 100 代左右的室内抗性选育而成。

野外种群:将采自浙江杭州、湖北荆州、云南个旧和重庆 3 大蔬菜基地(璧山、潼南、武隆)的朱砂叶螨,用新鲜豇豆叶片饲养 2 代,即视为野外种群。

朱砂叶螨室内饲养条件为温度(26 ± 1) $^{\circ}\text{C}$,相对湿度 55%~70%,光照周期 L:D=14:10。

1.2 供试药剂

92.9%阿维菌素原药(天津汉邦植物保护剂有限责任公司)、98%丁氟螨酯原药(苏州富美实植物保护剂有限公司)、92%甲氰菊酯原药(四川省农药检定所提供)、90%炔螨特原药(山东滨农科技有限公司)、92%氧化乐果原药(重庆农药化工有限公司)、90%增效醚(PBO, Sigma-Aldrich 化学有限公司)、97%磷酸三苯酯(TPP, 成都科龙化工试剂厂)和 97%顺丁烯二酸二乙酯(DEM, 广州伟伯化工有限公司)。

1.3 药膜制备

参照 Van Leeuwen 等(2004)的药膜法,将杀

螨剂原药用丙酮稀释成 6~7 个浓度梯度,从稀释好的药液中吸取 1.2 mL 加入到 1.5 mL 的离心管中,轻轻转动离心管,使药剂在管内壁形成一层均匀的药膜,然后倒掉多余的药液,放置通风橱内抽风至丙酮完全挥发,每个浓度处理设 3 个重复。对照单独用丙酮处理离心管,方法相同。

1.4 试虫处理

每个药膜管放置 30 头健康一致的雌成螨,在室内正常饲养条件下放置 24 h 后检查死亡率。死亡标准为:用毛笔尖轻触虫体,只有一只足动或完全不动即视为死亡。以对照死亡率小于 10% 为有效测定,并用对照死亡率进行校正。记录不同药膜浓度下供试朱砂叶螨的不同死亡率,数据分析采用 SPSS 软件,求出直线回归方程、 LC_{50} 、95%置信限和卡方值等。

1.5 增效剂处理

将增效剂(PBO, DEM 和 TPP)与杀螨剂按有效成分 3:1 的比例混配(增效剂在测定范围内对试虫无直接杀伤作用),参照药膜法测定杀螨剂和混剂(杀螨剂+增效剂)对朱砂叶螨的毒力,比较 LC_{50} 值,计算增效效应。增效比值(synergy ratio, 简称 SR)按 Brindley(1977)的方法计算:

增效比(SR) = 单剂的 LC_{50} 值/(单剂+增效剂)的 LC_{50} 值。

2 结果与分析

2.1 朱砂叶螨对 5 种杀螨剂的敏感基线

以 5 种杀螨剂对朱砂叶螨敏感品系的 LC_{50} 值作为各杀螨剂的敏感基线,结果见表 1。从表 1 可以看出 5 种药剂 LC_{50} 值差异显著(各药剂 95% 置信限都没有重叠),杀螨活性从高到低为:阿维菌素>丁氟螨酯>氧化乐果>炔螨特>甲氰菊酯。

表 1 5 种杀螨剂对朱砂叶螨的敏感基线

Table 1 The sensitivity baseline of 5 acaricides against *Tetranychus cinnabarinus*

杀螨剂 Acaricide	供试螨数 No.	<i>P</i>	χ^2	斜率(±标准误) Slope (±SE)	LC_{50} (mg/L)	95% 置信限 95% CI
阿维菌素 Abamectin	426	0.57	5.39	2.68 (±0.26)	0.08	0.076—0.084
丁氟螨酯 Cyflumetofen	403	0.96	0.31	2.30 (±0.31)	2.14	1.73—2.51
氧化乐果 Omethoate	428	0.38	3.11	1.53 (±0.23)	67.86	50.58—83.32
炔螨特 Propargite	394	0.76	1.18	1.49 (±0.28)	203.29	135.85—257.90
甲氰菊酯 Fenpropathrin	499	0.48	4.49	1.63 (±0.21)	600.36	488.62—715.56

2.2 朱砂叶螨不同地理种群对 5 种杀螨剂的抗性水平

朱砂叶螨不同地理种群对 5 种杀螨剂抗性水平测定结果见图 1。从图 1 可以看出,不同地区朱砂叶螨对不同杀螨剂的抗性水平差异较大:各地理种群总体对甲氧菊酯和炔螨特的抗性较高,对甲氧菊酯的抗性倍数介于 2.95 ~ 16.35 之间,对

炔螨特的抗性倍数介于 4.80 ~ 14.20 之间,其中云南个旧种群对这 2 种杀螨剂的抗性最高;对氧化乐果及丁氟螨酯的抗性较低,其抗性倍数分别介于 2.35 ~ 4.26 与 1.60 ~ 2.16 之间;各地理种群对阿维菌素还没有产生明显抗性。室内阿维菌素和甲氧菊酯抗性筛选品系的抗药性分别达 30.63 和 102.57 倍(表 2,3)。

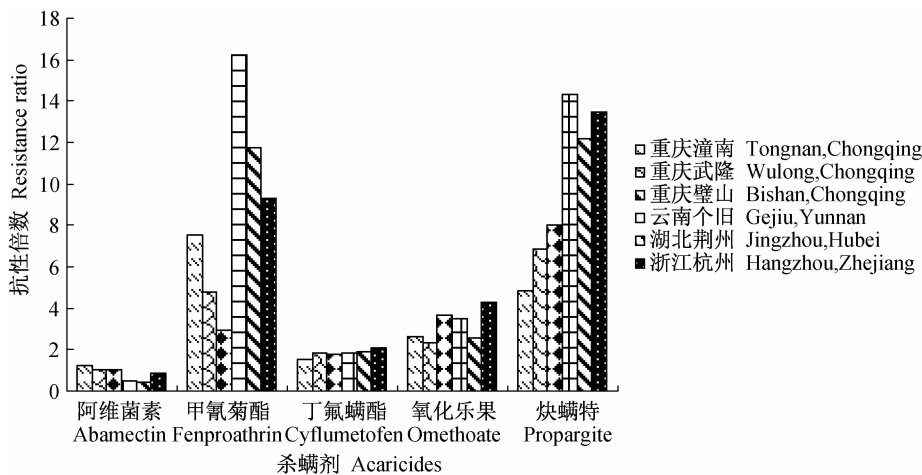


图 1 朱砂叶螨对 5 种杀螨剂的抗性倍数
Fig.1 The resistance ratio of *Tetranychus cinnabarinus* to 5 acaricides

2.3 增效剂对 2 种杀螨剂的增效作用

2.3.1 增效剂对阿维菌素的增效作用

从表 2 可以看出,PBO、DEM 和 TPP 对阿维菌素在敏感品系中的增效倍数分别为 2.00、1.45 和 1.40 倍(其

表 2 3 种增效剂对阿维菌素的增效作用
Table 2 Synergy effects of three synergists to abamectin

杀螨剂 Acaricide	供试螨数 No.	斜率(± 标准误) Slope (± SE)	P	χ ²	LC ₅₀ (mg/L)	95% 置信限 95% CI	增效比/抗性倍数 ¹ Synergism ratio/ Resistance ratio
朱砂叶螨敏感品系(S)							
阿维菌素 Abamectin	426	2.68 (± 0.26)	0.57	5.39	0.080	0.076—0.084	—
+ PBO	418	1.74 (± 0.22)	0.33	5.79	0.041	0.034—0.048	2.00
+ DEM	425	2.21 (± 0.30)	0.72	2.88	0.055	0.048—0.063	1.45
+ TPP	426	1.99 (± 0.32)	0.86	1.95	0.057	0.049—0.068	1.40
朱砂叶螨阿维菌素抗性品系(AbR)							
阿维菌素 Abamectin	428	1.65 (± 0.23)	0.89	1.70	2.45	2.03—3.02	30.63
+ PBO	420	1.35 (± 0.24)	0.99	0.38	0.82	0.60—1.07	20.00
+ DEM	423	1.30 (± 0.23)	0.85	2.03	1.08	0.82—1.56	19.64
+ TPP	406	1.26 (± 0.20)	0.98	0.78	1.07	0.81—1.52	18.77

注:¹ 敏感品系中增效比 = 阿维菌素 LC₅₀/(阿维菌素 + 增效剂)LC₅₀;抗性品系的抗性倍数 = 抗性品系 LC₅₀/敏感品系 LC₅₀。
¹ Synergy ratio of synergists to abamectin in susceptible strain = LC₅₀ of abamectin/LC₅₀ of both abamectin and synergists; resistance ratio of resistant stain = LC₅₀ of resistant strain/LC₅₀ of susceptible strain.

中 PBO 的增效作用较显著),表明阿维菌素在朱砂叶螨体内会受到多功能氧化酶、谷胱甘肽 S-转移酶和酯酶的代谢;同时,从表 2 也可以看出,PBO、DEM 和 TPP 分别降低了朱砂叶螨对阿维菌素 10.63、10.99 和 11.86 倍的抗性。

2.3.2 增效剂对甲氰菊酯的增效作用 3 种增效剂对甲氰菊酯的增效作用见表 3。PBO、DEM 和

TPP 对甲氰菊酯在敏感品系中的增效比较均匀,增效倍数分别为 2.56、1.98 和 2.11 倍,表明朱砂叶螨多功能氧化酶、谷胱甘肽 S-转移酶和酯酶对甲氰菊酯都具有大致相当的代谢能力;同时,从表 3 也可以看出,PBO、DEM 和 TPP 分别降低了朱砂叶螨对甲氰菊酯 1.53、9.44 和 16.83 倍的抗性。

表 3 3 种增效剂对甲氰菊酯的增效作用
Table 3 Synergy effects of three synergists to fenpropathrin

杀螨剂 Acaricide	供试螨数 No.	斜率(±标准误) Slpoe (±SE)	P	χ^2	LC ₅₀ (mg/L)	95% 置信限 95% CI	增效比/抗性倍数 ¹ Synergism ratio/ Resistance ratio
朱砂叶螨敏感品系(S)							
甲氰菊酯 Fenpropathrin	499	1.63 (±0.21)	0.48	4.49	600.36	488.62—715.56	—
+ PBO	499	1.54 (±0.18)	0.93	1.31	234.70	181.01—287.01	2.56
+ DEM	450	1.07 (±0.15)	0.54	4.07	302.68	226.18—405.35	1.98
+ TPP	453	1.03 (±0.16)	0.73	2.80	285.02	210.17—383.12	2.11
朱砂叶螨甲氰菊酯抗性品系(FeR)							
甲氰菊酯 Fenpropathrin	439	1.51 (±0.21)	0.92	1.45	61 581.93	49 641.61—75 068.17	102.57
+ PBO	499	0.95 (±0.13)	0.94	1.30	23 713.81	17 028.76—31 901.84	101.04
+ DEM	426	1.19 (±0.16)	0.90	1.61	28 188.12	21 096.45—37 784.44	93.13
+ TPP	435	0.88 (±0.15)	0.99	0.46	24 436.37	17 150.08—35 414.41	85.74

注:¹ 敏感品系中增效比 = 甲氰菊酯 LC₅₀/(甲氰菊酯 + 增效剂) LC₅₀; 抗性品系的抗性倍数 = 抗性品系 LC₅₀/敏感品系 LC₅₀。

¹ Synergy ratio of synergists to fenpropathrin in susceptible strain = LC₅₀ of fenpropathrin/LC₅₀ of both fenpropathrin and synergists; resistance ratio of resistant strain = LC₅₀ of resistant strain/LC₅₀ of susceptible strain.

3 讨论

对于叶螨的生物测定,研究者大多采用 FAO 推荐的玻片浸渍法,但在叶螨的抗药性研究中, Van Leeuwen 等(2004)推荐采用药膜法。本文用药膜法建立了朱砂叶螨对 5 种常用杀螨剂的敏感基线,其 LC₅₀ 值分别为阿维菌素 0.08 mg/L、丁氟螨酯 2.14 mg/L、氧化乐果 67.86 mg/L、炔螨特 203.29 mg/L 和甲氰菊酯 600.36 mg/L,其中阿维菌素对朱砂叶螨雌成螨的生物活性最高,其次为丁氟螨酯。为指导朱砂叶螨的田间防治,国内研究者大多采用玻片浸渍法测定了多种杀螨剂对朱砂叶螨田间种群的生物活性,结果表明在所测定的杀螨剂中,仍然以阿维菌素(制剂或原药)具有最高的毒力(袁会珠等,2006;赵玉伟等,2006;马

惠等,2009;王少丽等,2009;弓文香和王玉松,2011)。因此,我们和国内其他学者的研究结果都表明,阿维菌素是目前对朱砂叶螨(雌成螨)室内和野外种群生物活性最高的杀螨剂。

有关朱砂叶螨野外种群的抗药性,国内外鲜有报道。本文在建立起敏感基线的基础上,测定了朱砂叶螨 6 个地理种群对 5 种杀螨剂的抗性水平,结果表明不同地理种群对不同杀螨剂的抗性水平存在较大差异。各地理种群总体对甲氰菊酯和炔螨特的抗性较高,对甲氰菊酯的抗性倍数介于 2.95 ~ 16.35 之间,对炔螨特的抗性倍数介于 4.80 ~ 14.20 之间,其中云南个旧种群对这 2 种杀螨剂的抗性最高,已达中等抗性水平;对氧化乐果及丁氟螨酯也产生了抗药性,但抗性水平较低,其抗性倍数分别介于 2.35 ~ 4.26 与 1.60 ~ 2.16 之

间;各地理种群对阿维菌素还没有产生明显抗性。不同地理种群抗性监测结果可以为防治朱砂叶螨的合理用药提供参考,比如对于已经产生抗性的甲氰菊酯和炔螨特,应该采取停用或轮换用药的措施,以减轻这 2 种药剂的选择压力,逐渐恢复朱砂叶螨的敏感性。抗性水平监测还发现 2 个有趣现象,一是朱砂叶螨各地理种群对还未在中国使用的新登记杀螨剂丁氟螨酯已产生了低水平抗性,二是各地朱砂叶螨对已在中国登记使用超过 10 年的阿维菌素还没有产生抗性。丁氟螨酯据报道是一种作用机制新颖的杀螨剂,通过抑制电子传递链过程中的线粒体复合体 II 而起作用,该药从未在欧洲使用过,但荷兰温室玫瑰上的 2 个二斑叶螨品系却对其产生了抗药性 (Khajehali *et al.*, 2011)。我们和国外同行的研究表明,可能叶螨(包括朱砂叶螨和二斑叶螨)存在一种普遍的抗性机制,从而介导了对还没有开始田间大面积应用的丁氟螨酯一定程度的抗药性,这也暗示新型杀螨剂丁氟螨酯潜在的抗性风险较大。本文采用药膜法监测的 6 个地理种群对阿维菌素还没有产生明显抗性,涉及的地理种群可视为南方种群,但我们从文献资料仍可以推知朱砂叶螨其它地理种群,如北方种群,近些年也还未对阿维菌素产生明显抗药性。文献报道用玻片浸渍法测得阿维菌素对山东临清种群的 LC_{50} 为 0.058 mg/L (马惠等, 2009)、对北京种群的 LC_{50} 为 0.0007 mg/L (王少丽等, 2009)、对辽宁沈阳种群的 LC_{50} 为 0.01 mg/L (赵玉伟等, 2006) 以及对湖北武汉种群的 LC_{50} 为 0.0012 mg/L (袁会珠等, 2006), 而我们曾报道用玻片浸渍法测得朱砂叶螨室内敏感品系的 LC_{50} 为 0.017 mg/L (He *et al.*, 2009), 虽然可能由于操作者不同、供试虫源不一致以及供试药剂或为制剂或为原药等因素导致文献报道的北京和武汉种群对阿维菌素的敏感性甚至超过了室内敏感品系 (LC_{50} 值显著低于敏感基线), 但这不影响我们从总体上判断, 即用玻片浸渍法测得的结果表明不同地理种群对阿维菌素仍然保持敏感 (山东临清种群产生约 3 倍抗性除外)。综合分析各药剂对朱砂叶螨不同地理种群的生物活性测定及抗药性监测结果, 可以认为目前阿维菌素是值得推荐的防治朱砂叶螨的优秀杀螨剂, 而刚在我国登记还未广泛使用的丁氟螨酯潜在抗性风险可能较高。

增效剂的增效作用测定是研究抗药性生化机

制的常用工具之一 (许雄山等, 1999)。本文用该法初步研究了朱砂叶螨对阿维菌素和甲氰菊酯的抗性生化机制, 结果表明 PBO、DEM 和 TPP 总共降低了朱砂叶螨对阿维菌素 33.48 倍以及对甲氰菊酯 27.80 倍的抗性。3 种酶抑制剂对阿维菌素抗性的抑制略超过其总体抗性水平 (阿维菌素抗性为 30.68 倍, 这可能是因为 PBO、DEM 和 TPP 并非是完全专一性抑制剂而存在部分交叉抑制现象 (许雄山等, 1999), 导致抗性抑制倍数叠加而被高估, 而对甲氰菊酯抗性的抑制大约为其总体抗性水平的三分之一。增效剂生物测定结果提示我们, 在目前的抗性水平, 朱砂叶螨对阿维菌素的抗药性主导机制是代谢解毒酶活性升高; 而对甲氰菊酯的抗药性, 解毒代谢起了重要但不是主要作用, 其他机制如靶标敏感性降低可能是目前的抗性主导机制。

参考文献 (References)

- Brindley WA, 1977. Synergist, differences as an alternate interpretation of carbaryl-piperonyl butoxide toxicity data. *Environ. Entomol.*, 6(6):885—888.
- He L, Gao XW, Wang JJ, Zhao ZM, Liu NN, 2009. Genetic analysis of abamectin resistance in *Tetranychus cinnabarinus*. *Pestic. Biochem. Phys.*, 95(3):147—151.
- He L, Xue CH, Wang JJ, Li M, Lu WC, Zhao ZM, 2009. Resistance selection and biochemical mechanism of resistance to two Acaricides in *Tetranychus cinnabarinus* (Boiduval). *Pestic. Biochem. Phys.*, 93(1):47—52.
- Khajehali J, Van Nieuwenhuysen P, Demaeght P, Tirry L, Van Leeuwen T, 2011. Acaricide resistance and resistance mechanisms in *Tetranychus urticae* populations from rose greenhouses in the Netherlands. *Pest Manag. Sci.*, 67(11):1424—1433.
- Stumpf N, Nauen R, 2001. Cross-resistance, inheritance, and biochemistry of mitochondrial electron transport inhibitor-acaricide resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *J. Econ. Entomol.*, 94(6):1577—1583.
- Van Leeuwen T, Stillatus V, Tirry L, 2004. Genetic analysis and cross-resistance spectrum of a laboratory-selected chlorfenapyr resistant strain of two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). *Exp. Appl. Acarol.*, 32(4):249—261.
- 弓文香, 王玉松, 2011. 常用杀螨剂对朱砂叶螨室内活性测定. *现代农药*, 10(1):55—57.
- 何林, 赵志模, 曹晓芳, 邓新平, 王进军, 2005. 朱砂叶螨

- 抗甲氰菊酯品系选育及遗传分析. 中国农业科学, 38(4):719—724.
- 马惠, 周玉, 夏晓明, 赵鸣, 王红艳, 2009. 9 种杀螨剂对朱砂叶螨不同发育阶段的室内毒力测定. 中国农学通报, 25(23):375—379.
- 王少丽, 王然, 张友军, 徐宝云, 2009. 11 种常用药剂对蔬菜朱砂叶螨的室内毒力测定. 中国农学通报, 25(24):386—388.
- 许雄山, 韩召军, 王荫长, 1999. 增效醚对棉铃虫的毒理学研究. 农药学学报, 1(2):42—46.
- 袁会珠, 黄雄英, 曹勘程, 张永军, 陈小霞, 齐淑华, 朱文达, 2006. 19 种防治棉叶螨药剂室内毒力测定及安全性评价. 棉花学报, 18(6):342—346.
- 赵玉伟, 周玉书, 任健, 2006. 二斑叶螨和朱砂叶螨对常用杀螨剂的敏感性比较. 农药, 45(6):418—419.

* * * * *



封面介绍

线毛萤叶甲 *Pyrrhalta lineola* (Fabricius)

线毛萤叶甲 *Pyrrhalta lineola* (Fabricius), 也称黄褐萤叶甲, 据文献记载主要为害柳树、榛树和赤杨。该虫分布于日本、奥地利、比利时、捷克、英国和俄罗斯等欧洲大部分地区以及我国吉林省。线毛萤叶甲以成虫在树皮缝内聚集越冬, 有时虫量非常大。封面照片为作者 2011 年 9 月 25 日拍摄于塔吉克斯坦的杜尚别, 成千上万只成虫聚集在杨树、桦树、枫香等大树的树皮缝内。据薛怀君博士和杨星科研究员 2010 年报道毛萤叶甲属超过 110 种。该种学名承蒙中国科学院动物研究所杨星科研究员鉴定, 并得到葛斯琴博士和薛怀君博士的帮助, 在此深表谢意。

(中国科学院动物研究所 张润志)