

柑橘木虱抗药性研究进展*

田发军** 刘家莉 曾鑫年***

(华南农业大学, 广东省昆虫行为调控工程技术研究中心, 广州 510642)

摘 要 柑橘木虱 *Diaphorina citri* Kuwayama 主要危害柑橘等芸香科植物, 传播柑橘黄龙病病菌。柑橘树感染黄龙病后, 叶片黄化, 果实早熟脱落, 畸形, 最终死亡, 给柑橘产业带来了极大的损失。柑橘木虱对各种常见的杀虫剂已产生了不同程度的抗药性。本文从柑橘木虱的抗性测定方法、抗药性现状、交互抗性、抗药性机理和抗性治理等方面进行了综述, 为今后柑橘木虱的防治提供一定的参考。

关键词 柑橘木虱, 抗药性, 抗性机理, 抗性治理

Progress in research on insecticide resistance in the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*

TIAN Fa-Jun** LIU Jia-Li ZENG Xin-Nian***

(Guangdong Engineering Research Center for Insect Behavior Regulation, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract The Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, is the primary vector of citrus Huanglongbing; a devastating disease of citrus that causes small and bitter fruit, aborted seeds, and rapid tree death. It is a huge potential threat to the development of the citrus industry around the world. *D. citri* has developed resistance to various classes of insecticides. This review introduces current knowledge on bioassay methods, insecticide resistance, cross-resistance, resistance mechanisms and resistance management in *D. citri* and provides a valuable reference for future research.

Key words *Diaphorina citri*, insecticide resistance, resistance mechanism, resistance management

柑橘木虱 *Diaphorina citri* Kuwayama 属半翅目 (Hemiptera) 木虱科 (Psyllidae), 是柑橘黄龙病 (HLB) 唯一的自然传播媒介昆虫 (Halbert and Manjunath, 2004; Hijaz *et al.*, 2016; 孙秀新等, 2016)。柑橘黄龙病是全球柑橘种植生产上最具毁灭性的病害之一, 且在大多数柑橘种植区都存在 (Manjunath *et al.*, 2008; Hijaz *et al.*, 2013)。该病原菌会导致柑橘树生长不良, 叶片黄化, 果实早熟脱落、畸形, 最终导致植株死亡 (Fan *et al.*, 2010; Mann *et al.*, 2013)。柑橘木虱获取病原菌概率最高的阶段是在若虫期, 但病原菌侵染健康植株主要通过成虫携带和传播

(Pelz-Stelinski *et al.*, 2010; Mann *et al.*, 2012; Chen and Stelinski, 2017)。

果园中带菌柑橘木虱的种群数量直接影响柑橘黄龙病的发生与传播 (Mann *et al.*, 2012; Grafton-Cardwell *et al.*, 2013; 汪善勤等, 2015)。目前, 随着黄龙病在全世界范围内扩散, 控制柑橘黄龙病发生和传播的最重要方法是利用杀虫剂控制其媒介昆虫柑橘木虱的种群数量, 来抑制黄龙病的传播 (Manjunath, *et al.*, 2008; Boina and Bloomquist, 2015)。目前, 可利用的有效杀虫剂包含各种具有不同作用方式的化学物质, 主要包括有机磷类、有机氯类、新烟碱类、氨基甲

*资助项目 Supported projects: 国家重点研发计划项目 (2017YFD0202005)

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

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: zengxn@scau.edu.cn

收稿日期 Received: 2018-07-03, 接受日期 Accepted: 2018-07-20

酸酯类、阿维菌素类和拟除虫菊酯类等杀虫剂 (Srinivasan *et al.*, 2008; Sétamou *et al.*, 2010; Belasque *et al.*, 2010; Boina and Bloomquist, 2015)。然而, 常规管理的果园通常已有较长的用药史, 同时在某些地区连续重复使用同种杀虫剂或者相同作用方式的杀虫剂, 都导致了柑橘木虱抗药性的产生和发展 (倪智伟和浦冠勤, 2006)。这主要是由于经济限制或者种植者忽视了不同作用方式的杀虫剂交替使用。而且, 每年用于防治柑橘木虱的杀虫剂使用量不断增加 (Boina and Bloomquist, 2015)。因此, 迫切需要新的策略来有效地应用目前登记的杀虫剂来可持续的防治柑橘木虱。为此, 本文对柑橘木虱的抗药性及抗性机理的研究进展进行综述, 为进一步研究柑橘木虱的抗药性和防治策略提供信息和参考。

1 柑橘木虱的抗药性测定方法

害虫抗药性监测技术是抗药性研究中应用最广的一项基本技术。由于不同药剂本身的性质、作用方式和防治对象以及作用机理等不同, 测定方法也有所不同。准确的建立害虫抗药性监测方法, 是进行抗药性研究的前提。目前, 常用于柑橘木虱对杀虫剂抗性监测的方法有点滴法 (Tiwari *et al.*, 2011a; Vazquez-Garcia *et al.*, 2013)、药膜法 (邓明学等, 2012a, 2012b; Kanga *et al.*, 2016; Chen and Stelinski, 2017)、浸叶法 (Naeem *et al.*, 2016; Tiwari *et al.*, 2011a) 和浸虫法 (Alizadeh *et al.*, 2011) 等。点滴法具有试虫受药量准确、测定误差小、重复性好等优点, 对柑橘木虱成虫和若虫的抗药性测定都适用, 主要用于精确的室内抗性研究 (Tiwari *et al.*, 2011a)。而浸叶法主要是简便易行, 与田间实际情况比较接近, 也能用于柑橘木虱成虫和若虫的抗药性测定。因此, 目前对于柑橘木虱的抗药性测定主要是采用浸叶法 (Naeem *et al.*, 2016)。药膜法主要是应用于触杀类杀虫剂的抗药性测定, 而对于柑橘木虱只能用于成虫的抗药性测定, 具有一定的局限性。生物测定适用于定量测

定柑橘木虱抗药性的传统方法, 但目前随着抗性监测目的的多元化, 其监测手段也朝着多元化方向发展, 形成了一些快速简便新的测定方法。新的方法主要包括诊断剂量法、神经电生理检测法、生物化学检测法和分子生物学检测法等多种方法 (Srinivasan *et al.*, 2008; Tiwari *et al.*, 2011b)。但这些方法目前没有在柑橘木虱抗性监测上应用。例如, 在印尼用平板微量测定分析法和酶联免疫测定法测定褐飞虱的抗药性 (Kiritani, 1979)。尽管这些测定方法相对于传统的生物测定具有许多优点, 如精确度高、灵敏度高、效率高等, 但这些方法必须建立在对害虫抗药性的生理生化机制和分子机制研究比较清楚的基础上, 并且仅仅只能针对单一抗性机制引起的抗性监测, 而对于多种抗性机制共同起作用引起抗药性的昆虫不能够应用。在实际条件下, 害虫的抗药性往往是由几种机制共同作用的, 各种机制之间不仅仅是简单的相加, 而关于柑橘木虱的抗药性机制目前仍然不清楚, 因此上述抗性监测的新方法还不能够运用到田间进行柑橘木虱的抗药性监测, 只能作为生物测定的辅助工具。因此, 如何提高对柑橘木虱早期抗药性监测方法的灵敏性已成为抗药性监测的重要任务。尽早对柑橘木虱的抗药性进行监测, 及时掌握柑橘木虱抗药性的发展动态, 为制定合理有效的抗性治理策略提供一定的数据支持和技术保证。

2 柑橘木虱的抗药性

目前, 采用化学药剂防治柑橘木虱仍然是控制柑橘黄龙病传播的主要手段 (王奇志等, 2018; 张艳璇等, 2013)。大量多次和不当的使用杀虫剂都会导致柑橘木虱抗药性水平增加。害虫抗性的产生不仅仅增加了管理成本, 而且过度使用杀虫剂还会造成杀虫剂在果树中的残留和污染环境等问题。随着杀虫剂的不合理使用、不同地区的环境条件不同和施药方式不同等原因导致了柑橘木虱对多种杀虫剂产生了不同程度的抗药性。

2.1 中国柑橘木虱的抗药性

在中国, 关于柑橘木虱抗药性研究相对较

少,但可以肯定部分地区的柑橘木虱已存在严重的抗药性。最早开展柑橘木虱抗药性研究是在2012年,邓学明等(2012b)通过药膜法研究了广西果园中柑橘木虱对毒死蜱、吡虫啉、高效氯氟菊酯、高效氟氯氟菊酯、丁硫克百威和虫螨腈6种农药的抗药性。结果发现,柑橘木虱对毒死蜱的抗性最高,产生了8.8倍的抗药性;对高效氯氟菊酯和吡虫啉也产生了一定的抗药性;对高效氟氯氟菊酯和丁硫克百威处于敏感性下降阶段;而对虫螨腈还处于敏感阶段。同年,通过相同的方法研究了柑橘木虱对4种新烟碱杀虫剂吡虫啉、噻虫嗪、呋虫胺和啮虫脒的抗药性,结果发现,柑橘木虱对呋虫胺的抗性最高,产生了17.1倍的抗药性;对吡虫啉、啮虫脒和噻虫嗪也产生了一定的抗药性(邓明学等,2012a)。

2.2 美国柑橘木虱的抗药性

美国关于柑橘木虱抗药性的研究报道较多,大多数研究都集中在佛罗里达地区的柑橘木虱种群。2009和2010年,Tiwari等(2011a)用点滴法测定了佛罗里达5个地区田间柑橘木虱成虫种群对13种杀虫剂的敏感性。结果发现,田间柑橘木虱种群对吡虫啉、毒死蜱、噻虫嗪、马拉硫磷和甲氰菊酯已产生抗药性,抗性倍数最高的地区为La Balle,对吡虫啉和噻虫嗪的抗性倍数分别为35.0倍和13.0倍。但该地区对毒死蜱的抗性相对较低,抗性倍数为6.9倍。而Lake Alfred, Ft Pierce和Vero Beach 3个地区柑橘木虱种群对毒死蜱的抗性分别为11.8倍,13.3倍和17.9倍。同时这3个地区的柑橘木虱种群对马拉硫磷也产生了一定的抗药性,抗性倍数分别为5.0倍,5.4倍和3.0倍。Vero Beach地区的柑橘木虱对甲氰菊酯的抗性最高,为4.8倍。并通过浸叶法测定了5种杀虫剂对4个地区柑橘木虱4龄若虫的敏感性,结果表明,Winter Garden地区4龄若虫对乙基多杀菌素的抗性最高,为5.9倍。同时一些地区的若虫对西维因、吡虫啉和毒死蜱也产生一定的抗性。2011年,Tiwari等(2013)又进一步研究了佛罗里达5个地区柑橘木虱对6种杀虫剂(西维因、毒死蜱、甲氰菊酯、吡虫啉、乙基多杀菌素和噻虫嗪)的抗药性,结

果发现,田间柑橘木虱在LD₅₀和LD₇₅的剂量处理下,对毒死蜱和噻虫嗪表现出敏感性下降。在LD₉₅的剂量处理下,田间柑橘木虱对6种杀虫剂的敏感性降低。同时该研究也表明了佛罗里达地区柑橘木虱的抗药性将继续增加,特别是对于毒死蜱和甲氰菊酯。在2013和2014年,Coy等(2016)对佛罗里达地区的柑橘木虱抗药性进行连续测定,这些杀虫剂主要包括西维因,毒死蜱,乐果,甲氰菊酯,氟虫脒,吡虫啉和噻虫嗪。结果表明,柑橘木虱对这些杀虫剂的抗性减弱,与2009年相比,出现了逆转,可能是区域规范化的控制柑橘木虱引起的。2016年,Kanga等(2016)通过药膜法研究了17种农药对佛罗里达田间柑橘木虱种群的敏感性。结果表明,田间柑橘木虱对有机磷类农药马拉硫磷具有较强的抗性,对西维因、氯氟菊酯和呋喃丹产生了一定的抗药性,而对硫丹、二嗪农、灭多威等杀虫剂仍处于敏感阶段。

2.3 其它地区柑橘木虱的抗药性

2013年,Vázquez-García等(2013)用点滴法测定了墨西哥8个地区柑橘木虱成虫种群对11种杀虫剂的敏感性。结果发现,Apatzingan和Michoacan地区的柑橘木虱对一些杀虫剂具有较强的抗药性,对吡虫啉的抗性为4 265.6倍,乐果为106.5倍,毒死蜱为26.5倍,噻虫嗪为13.8倍。其它地区的柑橘木虱对吡虫啉、噻虫嗪和毒死蜱也产生了一定的抗药性,其结果与Tiwari等(2011a)报道的柑橘木虱在佛罗里达地区的抗药性结果相似,但是墨西哥地区柑橘木虱对新烟碱类和有机磷类杀虫剂的抗药性高于佛罗里达地区。随后在2014年,Pardo等(2018)对墨西哥3个地区的柑橘木虱成虫和4龄若虫在不同季节进行了抗药性测定。结果表明,在不同的季节,3个地区的柑橘木虱成虫和4龄若虫对联苯菊酯具有较低水平的抗性(≤7倍),而成虫和4龄若虫对马拉硫磷(≤345和≤432倍)和毒死蜱(≤2 435和≤1 424倍)产生了很强的抗药性。2014年,Rao等(2014)对印度那格浦尔和阿姆劳蒂地区的柑橘木虱种群进行了抗药性监测。结果表明,柑橘木虱对供试的5种杀虫

剂(乐果、硫丹、乙酰甲胺磷、噻虫嗪和吡虫啉)产生了中等水平的抗药性。同时印度柑橘木虱若虫的抗药性水平也高于成虫,研究结果与佛罗里达地区的柑橘木虱抗性水平结果相似。2016年,Naeem等(2016)研究了印度和巴基斯坦12个地区柑橘木虱种群对7种杀虫剂的敏感性。结果表明,田间柑橘木虱种群对吡虫啉的抗性最高,不同地区田间柑橘木虱种群对7种杀虫剂的抗性倍数分别为吡虫啉(233.6-758.5倍),啶虫脒(55.5-212.8倍),溴虫腈(13.1-46.4倍),烯啶虫胺(31.4-216.7倍),噻虫嗪(8.6-89.4倍),联苯菊酯(39.8-107.1倍)和毒死蜱(32.7-124.5倍)。

3 柑橘木虱对杀虫剂的交互抗性

邓学明等(2012a)通过药膜法研究柑橘木虱对4种新烟碱类杀虫剂的交互抗性,结果发现,对吡虫啉和啶虫脒产生抗药性的柑橘木虱种群,虽然从未施用过噻虫嗪和呋虫胺等新烟碱类杀虫剂,但对呋虫胺和噻虫嗪已经产生了低抗到中等抗性水平,说明呋虫胺与吡虫啉和啶虫脒之间可能存在交互抗性;已经对噻虫嗪产生抗药性的柑橘木虱,喷施3%啶虫脒EC 30 mg/kg稀释液4次后,抗性倍数显著增加,说明噻虫嗪与啶虫脒存在交互抗性。从这些杀虫剂的结构来看,噻虫嗪、呋虫胺都是N-硝基胍基团的新烟碱类杀虫剂,与吡虫啉同属一类,很可能也存在交互抗性,且可能性很大。Naeem等(2016)通过浸叶法研究了印度和巴基斯坦12个地区的柑橘木虱对7种杀虫剂的抗药性,同时对杀虫剂进行交互抗性相关分析,进一步证明了一些杀虫剂之间存在交互抗性。吡虫啉和啶虫脒之间成正相关,但是与噻虫嗪成负相关。同时溴虫腈和联苯菊酯成正相关,但差异不显著。因此,结果表明柑橘木虱对相同作用机理的杀虫剂之间已经存在较弱水平交互抗性。

4 柑橘木虱的抗性机理

抗性是杀虫剂选择的结果。产生抗性的原因有很多种,可分为行为抗性、生理抗性和代谢抗

性(Horowitz and Denholm, 2001;唐振华等, 2003)。生理抗性和代谢抗性是最主要的抗性机理且研究较多,行为抗性机理研究较少(李艳等, 2007)。生理抗性机理主要包括生物体靶标敏感性降低和表皮穿透性下降。生物体内靶标位点对化学药剂的敏感性降低,主要是靶标位点基因变异而降低药剂与该位点的亲和力。主要有靶标酶,如乙酰胆碱酯酶敏感性降低,和神经靶标,如钠离子通道、钙离子通道、 γ -氨基丁酸受体和氯离子通道等敏感性降低。代谢抗性主要是由于多功能氧化酶系(MFO)的作用,包括非专一性酯酶(EST)、细胞色素P450氧化酶(Cytochrome P450)和谷胱甘肽-S-转移酶(GST)等解毒酶的活性增加。一些研究表明很多害虫对DDT、拟除虫菊酯类、氨基甲酸酯类、新烟碱类和有机磷类杀虫剂的抗性与多功能氧化酶有关(Daborn *et al.*, 2002; Maymo *et al.*, 2002; Nikou *et al.*, 2003; Srigiriraju *et al.*, 2009)。2010年,Tiwari等(2011c)主要通过浸叶法研究了感染和未感染黄龙病病菌的柑橘木虱对5种杀虫剂的敏感性差异及其相关解毒酶的活性。结果表明,感病的柑橘木虱对毒死蜱和乙基多杀菌的 LC_{50} 明显低于未感病的柑橘木虱,而其它3种杀虫剂(西维因、甲氰菊酯和吡虫啉)之间没有显著性差异。同时研究结果还发现,感病的柑橘木虱其体内的蛋白质含量明显低于未感病的柑橘木虱,并且体内的酯酶含量也明显降低。随后又研究了细胞色素P450氧化酶和GST在感染和未感染黄龙病病菌的柑橘木虱体内的含量差异。结果表明,在感病的柑橘木虱成虫体内GST的活性明显低于未感病的柑橘木虱。同样地,细胞色素P450氧化酶的活性在感病的柑橘木虱成虫体内也明显低于未感病的柑橘木虱(Tiwari *et al.*, 2011b)。因此,黄龙病菌的感染改变了柑橘木虱体内的一些生理机制,导致了酶活性的改变,进一步增加了柑橘木虱对杀虫剂的敏感性(Tiwari *et al.*, 2011b)。同时也说明了柑橘木虱对杀虫剂的敏感性与体内的解毒代谢酶含量有关。这些解毒酶活性变化的最终阐释可以通过测定感病和未感病的柑橘

木虱体内相关解毒酶基因的表达水平。Tiwari 等 (2011a) 测定了柑橘木虱成虫和若虫体内 3 种解毒酶的活性与抗性的关系, 结果表明, 田间柑橘木虱种群 3 种解毒酶的活性显著高于实验室敏感种群。因此, 解毒酶的含量与柑橘木虱的抗药性成正相关。若虫的抗性高于成虫是由于其解毒酶的相对含量水平高于成虫。同时 Winter Garden 地区的柑橘木虱若虫体内 3 种酶含量最高, 这可能与该地区若虫对西维因、吡虫啉和乙基多杀菌素的抗性最高有关。综上所述, 田间柑橘木虱对多种杀虫剂的敏感性下降主要与 3 种解毒酶的活性有关。

目前, 关于柑橘木虱抗药性的分子机制研究较少。Tiwari 等 (2013) 同时研究了蛋白质含量和 5 个 *CYP4* 基因的表达水平与柑橘木虱抗药性的关系, 结果发现, 田间柑橘木虱种群的 5 个 *CYP4* 基因的表达水平和蛋白含量与实验室敏感品系相比均增加。同时田间柑橘木虱体内蛋白质含量的增加, 有助于细胞色素 P450 氧化酶的合成。这说明 5 个 *CYP4* 基因有可能介导柑橘木虱对毒死蜱和甲氰菊酯的抗性。随后, Killiny 等 (2014) 利用 RNAi 技术, 将双链 RNA 点滴到柑橘木虱第 3 对足之间使双链 RNA 进入到柑橘木虱体内对 5 个 *CYP4* 基因进行干扰。然后运用 qPCR 和蛋白质印迹法对目的基因和相应蛋白质含量进行检测, 结果发现目标基因转录和相应蛋白质的含量均明显减少。同时, 在 RNAi 处理后, 进一步测定柑橘木虱对杀虫剂的敏感性, 结果表明, RNAi 处理后显著的增加了柑橘木虱对吡虫啉的敏感性, 进一步说明了 5 个 *CYP4* 基因介导了柑橘木虱对吡虫啉的抗药性。同时这 5 个 *CYP4* 基因也可能与柑橘木虱对其它杀虫剂的抗药性相关, 需要进一步研究。Yu 和 Killiny (2018) 通过用毒死蜱、甲氰菊酯和噻虫嗪处理柑橘木虱后分析了柑橘木虱 3 个 GST 基因的表达量。结果表明, 甲氰菊酯和噻虫嗪处理显著增加了 *DcGSTd1* 和 *DcGSTe2* 基因的表达量, 分别为 4.9 倍和 4.6 倍。而毒死蜱处理后, *DcGSTe1* 基因的表达量仅增加 1.7 倍。同时, 饲喂双链 RNA 后

柑橘木虱对噻虫嗪的敏感性增加 23%, 对甲氰菊酯的敏感性增加 15%。然而, 干扰 *DcGSTe1* 基因后没有明显增加柑橘木虱对上述 3 种杀虫剂的敏感性。随后合成一条双链 RNA 同时干扰 *DcGSTd1* 和 *DcGSTe2* 基因。结果表明, 柑橘木虱对甲氰菊酯的死亡率增加 16%, 对噻虫嗪的死亡率增加 25%。上述结果表明, GST 基因在柑橘木虱的抗药性发展过程中起着重要的作用。随后, Kishk 等 (2017) 通过 RNAi 技术处理柑橘木虱成虫和 4 龄若虫后, 发现柑橘木虱成虫和若虫的 3 个乙酰胆碱酯酶基因的表达量明显降低, 同时明显增加了柑橘木虱成虫和若虫对毒死蜱和西维因的敏感性, 但对吡虫啉和甲氰菊酯敏感性没有显著的差异。因此这 3 个基因可能参与到了柑橘木虱对毒死蜱和西维因的代谢。因此, 酯酶在柑橘木虱对杀虫剂的抗药性发展过程中也起着重要的作用。刘斌 (2015) 通过对柑橘木虱的基因组学进行抗性相关机理分析研究, 结果发现, 与昆虫抗药性相关的钠离子通道 6 个突变位点中, V410、M918 和 F1534 是柑橘木虱最有可能发生的突变位点。通过对柑橘木虱的转录组组装、基因功能注释和相关抗性基因的分析。结果表明, 与抗药性相关的基因包括细胞色素 P450 基因 49 条、NADH 脱氢酶基因序列 46 条、谷胱甘肽-S-转移酶 16 条、羧酸酯酶基因序列 16 条、钙离子通道基因序列 14 条、过氧化氢酶基因序列 9 条、氯离子通道基因序列 9 条、 γ -氨基丁酸受体基因序列 2 条、ABC 转运蛋白基因序列 84 条和鱼尼丁受体基因序列 2 条。这些柑橘木虱钠离子通道可能的突变位点和抗药性相关基因的注释也为深入研究柑橘木虱的抗药性分子机理提供了更多的信息和奠定了基础。

5 柑橘木虱的抗性治理

对害虫的抗性进行治理不同于综合防治, 抗性治理的目的是保持害虫对杀虫剂的敏感性, 达到低剂量药剂控制害虫危害 (Georghiou and Mellon, 1983)。目前, 防治或者延缓害虫抗药性具有多种策略, 其中最基本的策略是适度治

理、多向进攻治理和饱和治理(汤秋玲等,2016)。在杀虫剂的抗性治理过程中通常是两种和多种策略同时使用,单独的治理策略很难达到目标。适度治理的主要策略包括减少施药次数、避免用缓释剂、采用较低使用量药剂使害虫保持一定比例的敏感基因和选用残效期短的杀虫剂等方法来延缓抗性的发展。多向进攻治理主要是根据农药对害虫的多靶标位点作用,使靶标位点不易因突变而产生抗药性,因此需要不同作用机制的杀虫剂交替使用或者混用。饱和治理主要是指采用高水平的施药技术,使大量的药剂施用到靶标害虫,或者通过增效剂与低剂量的药剂混用来消灭害虫种群中抗性遗传的杂合子,同时还需要在防治区释放对药剂敏感的种群,才能够延缓抗药性的发展。近年来,柑橘木虱抗药性不断增加,尤其是传播柑橘黄龙病给柑橘产业带来了严重的威胁(Boina *et al.*, 2009a, 2009b; Gatineau *et al.*, 2010)。结合上面论述的害虫抗性治理方法以及文献报道,作者认为柑橘木虱的抗性治理可综合采取如下措施。

5.1 加强柑橘木虱抗性监测

为防止柑橘黄龙病的扩散,必须加强柑橘木虱的抗性监测,明确其抗性水平。抗性监测的结果可以为制定合理的抗性治理对策和具体的施药方案提供一定的科学依据(沈晋良和吴益东,1995)。柑橘木虱抗性治理的关键是要对其抗性水平进行监测和评估,来指导杀虫剂的科学合理使用。同时新药剂应在开始使用时就建立相应的抗性监测方法,并进行抗性风险评估。同时还需要进一步增强柑橘木虱对常用杀虫剂的抗性作用机理研究,为柑橘木虱的抗性治理提供理论基础。

5.2 合理选择使用杀虫剂

合理使用杀虫剂延缓害虫的抗药性有多种方法,主要包括不同作用机制的药剂交替使用或混用以及对已经产生明显抗性的杀虫剂限制使用或禁用。首先,对柑橘木虱已经产生明显抗性的杀虫剂,应该限制使用或者停止使用该药剂和

具有交互抗性的药剂,同时使用具有不同作用机制的杀虫剂或者没有交互抗性的杀虫剂,以此来延缓柑橘木虱抗药性的进一步发展。其次,也可以混用具有不同作用机制的杀虫剂,使其形成多作用位点机制。同时具有负交互抗性的药剂轮用、混用也是抗性治理最理想的途径。但目前具有负交互抗性的杀虫剂较少。最后,杀虫剂的交替使用对于治理害虫抗性能否成功的关键是在于交替使用的间隔期。同时杀虫剂的轮用应在早期就开始实施,且应选用不同作用机制的杀虫剂。

5.3 用增效剂抑制害虫的解毒机制

增效剂能够抑制或弱化昆虫体内与代谢抗性有关的解毒酶活性,进而减少昆虫对杀虫剂的解毒作用和延缓药剂在防治对象体内的代谢速率,从而增加生物防效和减少用药量。同时增效剂还可以降低因代谢抗性机制产生的抗性。例如,Alizadeh 等(2011)研究发现增效剂胡椒基丁醚(PBO)能够抑制抗性木虱体内细胞色素P450氧化酶的活性,用药膜法对木虱的抗药性进行监测,木虱抗性品系的 LC_{50} 为17.84 mg/mL,当加入200 μ L浓度为10 mg/L的PBO时,其 LC_{50} 为5.68 mg/mL,增效3.14倍,因此PBO能够明显的抑制抗性木虱体内细胞色素P450氧化酶的活性,增强了木虱对杀虫剂的敏感性。

5.4 加强综合防治的其它各项措施

加强综合防治的其它各项措施,包括农业防治、生物防治、物理防治和化学防治等。(1)农业防治:调整栽培制度,在同一果园尽量栽种单一柑橘品种,加强果园的栽培管理,及时挖除老树和病树及柑橘木虱的中间寄主,同时在果园周围建防护林等措施;(2)生物防治:主要包括昆虫病原微生物对柑橘木虱进行侵染和寄生性天敌寄生柑橘木虱以及捕食性天敌捕食柑橘木虱,最终造成柑橘木虱死亡。目前报道的多种真菌可在潮湿的条件下侵染柑橘木虱,如球孢白僵菌、蜡蚧轮枝菌、桔形被毛孢和玫烟色棒束孢(Pelz-Stelinski *et al.*, 2010; Hall *et al.*, 2012;

Grafton-Cardwell *et al.*, 2013; Hussain *et al.*, 2018)。还可以利用和保护亮腹釉小蜂和跳小蜂等寄生性天敌及瓢虫、草蛉、食蚜蝇和蜘蛛等捕食性天敌进行防治 (Pluke *et al.*, 2005; Mann *et al.*, 2010); (3) 物理防治: 可用黄板和荧光灯物理方法诱捕柑橘木虱; (4) 化学防治: 关键是掌握木虱种群消长规律, 即在春、夏、秋柑橘新梢抽发期及时科学选用化学药剂进行防治。

6 展望

柑橘木虱是柑橘等芸香科植物的主要害虫, 主要传播柑橘黄龙病, 给柑橘产业造成了严重的经济损失。柑橘黄龙病发现后, 对柑橘木虱的化学药剂防治、生物防治、抗药性和抗药性机理等方面开展了一系列研究, 并取得了一定的研究成果。但关于柑橘木虱的抗药性机理研究仍不够深入, 因此深入探索柑橘木虱对各类杀虫剂的交互抗性及其抗药性机理, 使柑橘木虱抗药性分子机制得到更深入的阐释, 从而为柑橘木虱的化学防治和新型杀虫剂的研制提供一定的理论依据, 同时还有助于阻止柑橘黄龙病的扩散。在柑橘木虱的抗性治理过程中, 除了要坚持抗性治理原则外, 还要结合农业防治、生物防治和物理防治等方法, 使杀虫剂对柑橘木虱的选择压力降低和柑橘木虱的抗药性得到持续有效的控制, 以实现柑橘产业的可持续发展。

参考文献 (References)

- Alizadeh A, Talebi K, Hosseiniaveh V, Ghadamyari M, 2011. Metabolic resistance mechanisms to phosalone in the common pistachio psyllid, *Agonoscena pistaciae* (Hem.: Psyllidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 101(2): 59–64.
- Belasque JJ, Bassanezi R, Yamamoto P, Ayres A, Tachibana A, Violante A, Tank JA, Di Giorgi F, Terzi F, Menezes G, 2010. Lessons from huanglongbing management in São Paulo state, Brazil. *Journal of Plant Pathology*, 92(2): 285–302.
- Boina DR, Bloomquist JR, 2015. Chemical control of the Asian citrus psyllid and of huanglongbing disease in citrus. *Pest Management Science*, 71(6): 808–823.
- Boina DR, Onagbola EO, Salyani M, Stelinski LL, 2009a. Antifeedant and sublethal effects of imidacloprid on Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*. *Pest Management Science*, 65(8): 870–877.
- Boina DR, Onagbola EO, Salyani M, Stelinski LL, 2009b. Influence of posttreatment temperature on the toxicity of insecticides against *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). *Journal of Economic Entomology*, 102(2): 685–691.
- Chen XD, Stelinski LL, 2017. Rapid detection of insecticide resistance in *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) populations, using a bottle bioassay. *Florida Entomologist*, 100(1): 124–133.
- Coy MR, Bin L, Stelinski LL, 2016. Reversal of insecticide resistance in Florida populations of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). *Florida Entomologist*, 99(1): 26–32.
- Daborn P, Yen J, Bogwitz M, Le Goff G, Feil E, Jeffers S, Tijet N, Perry T, Heckel D, Batterham P, 2002. A single P450 allele associated with insecticide resistance in *Drosophila*. *Science*, 297(5590): 2253–2256.
- Deng XM, Pan ZX, Tan YL, Tang JF, Qin X, Chen GF, Tang ML, 2012a. Cross-resistance of Asian citrus psyllid to 4 neonicotinoid insecticides. *Agrochemicals*, 51(2): 153–155. [邓明学, 潘振兴, 谭有龙, 唐际飞, 覃旭, 陈贵峰, 唐明丽, 2012a. 柑橘木虱对 4 种新烟碱类杀虫剂的交互抗性. 农药, 51(2): 153–155.]
- Deng XM, Pan ZX, Tan YL, Tang JF, Qin X, Chen GF, Tang ML, 2012b. Monitoring of six insecticide resistance in Asian citrus psyllid from citrus groves of Guangxi, China. *China Plant Protection*, 32(4): 48–49. [邓明学, 潘振兴, 谭有龙, 唐际飞, 覃旭, 陈贵峰, 唐明丽, 2012b. 广西果园柑橘木虱对毒死蜱等 6 种农药的抗药性监测. 中国植保导刊, 32(4): 48–49.]
- Fan J, Chen C, Bransky R, Gmitter JF, Li, ZG, 2010. Changes in carbohydrate metabolism in citrus sinensis infected with 'Candidatus Liberibacter asiaticus'. *Plant Pathology*, 59(6): 1037–1043.
- Gatineau F, Bonnot F, Yen TTH, Tuyen ND, Truc NTN, 2010. Effects of imidacloprid and fenobucarb on the dynamics of the psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama and on the incidence of 'Candidatus Liberibacter asiaticus'. *Fruits*, 65(4): 209–220.
- Georghiou GP, Mellon RB, 1983. Pesticide Resistance in Time and Space. Springer: Pest Resistance to Pesticides. 1–46.
- Grafton-Cardwell EE, Stelinski LL, Stansly PA, 2013. Biology and management of Asian citrus psyllid, vector of the huanglongbing pathogens. *Annual Review of Entomology*, 58: 413–432.
- Halbert SE, Manjunath KL, 2004. Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease of citrus: a literature review and assessment of risk in Florida. *Florida Entomologist*, 87(3): 330–353.
- Hall DG, Hentz MG, Meyer JM, Kriss AB, Gottwald TR, Boucias DG, 2012. Observations on the entomopathogenic fungus

- Hirsutella citriformis* attacking adult *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in a managed citrus grove. *Biocontrol*, 57(5): 663–675.
- Hijaz F, Lu Z, Killiny N, 2016. Effect of host-plant and infection with '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' on honeydew chemical composition of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 158(1): 34–43.
- Hijaz FM, Manthey JA, Folimonova SY, Davis CL, Jones SE, Reyes-De-Corcuera JI, 2013. An HPLC-MS characterization of the changes in sweet orange leaf metabolite profile following infection by the bacterial pathogen *Candidatus Liberibacter asiaticus*. *PLoS ONE*, 8(11): e79485.
- Horowitz A, Denholm I, 2001. Impact of Insecticide Resistance Mechanisms on Management Strategies. Springer: Biochemical Sites of Insecticide Action and Resistance. 323–338.
- Hussain M, Akutse KS, Lin YW, Chen SM, Huang W, Zhang JG, Idress A, Qiu DL, Wang LD, 2018. Susceptibilities of *Candidatus Liberibacter asiaticus*-infected and noninfected *Diaphorina citri* to entomopathogenic fungi and their detoxification enzyme activities under different temperatures. *MicrobiologyOpen*, e00607.
- Kanga LH, Eason J, Haseeb M, Qureshi J, Stansly P, 2016. Monitoring for insecticide resistance in Asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae) populations in Florida. *Journal of Economic Entomology*, 109(2): 832–836.
- Killiny N, Hajeri S, Tiwari S, Gowda S, Stelinski LL, 2014. Double-stranded RNA uptake through topical application, mediates silencing of five CYP4 genes and suppresses insecticide resistance in *Diaphorina citri*. *PLoS ONE*, 9(10): 110536.
- Kiritani K, 1979. Pest management in rice. *Annual Review of Entomology*, 24(1): 279–312.
- Kishk A, Hijaz F, Anber HAI, AbdEl-Raof TK, El-Sherbeni AD, Hamed S, Killiny N, 2017. RNA interference of acetylcholinesterase in the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, increases its susceptibility to carbamate and organophosphate insecticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 143: 81–89.
- Li Y, Shi HM, Ou XM, Tan JC, 2007. Occurrence and resistance management of whiteflies. *Agrochemicals Research and Application*, 11(6): 14–17. [李艳, 施红梅, 欧晓明, 谭济才, 2007. 粉虱的发生与抗药性治理. 农药研究与应用, 11(6): 14–17.]
- Liu B, 2015. Detection of insecticides susceptibility and analyses of insecticides resistance-related genes. Doctoral dissertation. Chongqing: Southwest University. [刘斌, 2015. 柑橘木虱对杀虫剂敏感性检测及抗药性相关基因分析. 博士学位论文. 重庆: 西南大学.]
- Manjunath K, Halbert S, Ramadugu C, Webb S, Lee R, 2008. Detection of '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' in *Diaphorina citri* and its importance in the management of citrus huanglongbing in Florida. *Phytopathology*, 98(4): 387–396.
- Mann RS, Ali JG, Hermann SL, Tiwari S, Pelz-Stelinski KS, Alborn HT, Stelinski LL, 2012. Induced release of a plant-defense volatile 'deceptively' attracts insect vectors to plants infected with a bacterial pathogen. *PLoS Pathogens*, 8(3): 1002610.
- Mann RS, Qureshi JA, Stansly PA, Stelinski LL, 2010. Behavioral response of *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) to volatiles emanating from *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) and citrus. *Journal of Insect Behavior*, 23(6): 447–458.
- Mann RS, Rouseff RL, Smoot J, Rao N, Meyer WL, Lapointe SL, Robbins PS, Cha D, Linn CE, Webster FX, 2013. Chemical and behavioral analysis of the cuticular hydrocarbons from Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*. *Insect Science*, 20(3): 367–378.
- Maymo AC, Cervera A, Sarabia R, Martinez-Pardo, R., Garcera, M. D, 2002. Evaluation of metabolic detoxifying enzyme activities and insecticide resistance in *Frankliniella occidentalis*. *Pest Management Science*, 58(9): 928–934.
- Mi ZW, Pu GQ, 2006. Research progress on mechanism of insect resistance to insecticides. *Jiangsu Sericulture*, 28(4): 6–9. [倪智伟, 浦冠勤, 2006. 昆虫抗药性机制研究进展. 江苏蚕业, 28(4): 6–9.]
- Naeem A, Freed S, Jin FL, Akmal M, Mehmood M, 2016. Monitoring of insecticide resistance in *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) from citrus groves of Punjab, Pakistan. *Crop Protection*, 86: 62–68.
- Nikou D, Ranson H, Hemingway J, 2003. An adult-specific CYP6 P450 gene is overexpressed in a pyrethroid-resistant strain of the malaria vector, *Anopheles gambiae*. *Gene*, 318: 91–102.
- Pardo S, Martinez AM, Figueroa JI, Chavarrieta JM, Viñuela E, Rebollar-Alviter Á, Miranda MA, Valle J, Pineda S, 2018. Insecticide resistance of adults and nymphs of Asian citrus psyllid populations from Apatzingán Valley, Mexico. *Pest Management Science*, 74(1): 135–140.
- Pelz-Stelinski K, Bransky R, Ebert T, Rogers M, 2010. Transmission parameters for *Candidatus Liberibacter asiaticus* by Asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae). *Journal of Economic Entomology*, 103(5): 1531–1541.
- Pluke RW, Escibano A, Michaud J, Stansly PA, 2005. Potential impact of lady beetles on *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) in Puerto Rico. *Florida Entomologist*, 88(2): 123–128.
- Rao C, Shivankar V, Deole S, David K, Dhengre V, 2014. Insecticide resistance in field populations of Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). *Pesticide Research*

- Journal*, 26(1): 42–47.
- Sétamou M, Rodriguez D, Saldana R, Schwarzlose G, Palrang D, Nelson S, 2010. Efficacy and uptake of soil-applied imidacloprid in the control of Asian citrus psyllid and a citrus leafminer, two foliar-feeding citrus pests. *Journal of Economic Entomology*, 103(5): 1711–1719.
- Shen JL, Wu YD, 1995. Resistance of Cotton Bollworm and Its Management Strategy. Beijing: China Agriculture Press. 228–235. [沈晋良, 吴益东, 1995. 棉铃虫抗药性及其治理. 北京: 中国农业出版社. 228–235.]
- Srigiriraju L, Semtner PJ, Anderson TD, Bloomquist JR, 2009. Esterase-based resistance in the tobacco-adapted form of the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) in the eastern United States. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 72(2): 105–123.
- Srinivasan R, Hoy MA, Singh R, Rogers ME, 2008. Laboratory and field evaluations of silwet L-77 and kinetic alone and in combination with imidacloprid and abamectin for the management of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). *Florida Entomologist*, 91(1): 87–100.
- Sun XX, Shi PQ, Xu WM, Qin ZQ, Ren SX, Qiu BL, 2016. Endosymbiont detection and phylogeny of *Wolbachia* in *Diaphorina citri* and *Dialeurodes citri*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 53(4): 772–781. [孙秀新, 师沛琼, 许伟明, 覃振强, 任顺祥, 邱宝利, 2016. 华南地区柑橘木虱与柑橘粉虱内共生菌检测及其 *Wolbachia* 共生菌的系统发育关系分析. 应用昆虫学报, 53(4): 772–781.]
- Tang QS, Ma KS, Gao XW, 2016. Current status and management strategies of insecticide resistance in aphids on the vegetable crops. *Plant Protection*, 42(6): 11–20. [汤秋玲, 马康生, 高希武, 2016. 蔬菜蚜虫抗药性现状及抗性治理策略. 植物保护 42(6): 11–20.]
- Tang ZH, 2003. Molecular Behavior of Insecticide Action. Shanghai: Shanghai Far East Publishers. 45–48. [唐振华, 2003. 杀虫剂作用的分子行为. 上海: 上海远东出版社. 45–48.]
- Tiwari S, Killiny N, Stelinski LL, 2013. Dynamic insecticide susceptibility changes in Florida populations of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). *Journal of Economic Entomology*, 106(1): 393–399.
- Tiwari S, Mann RS, Rogers ME, Stelinski LL, 2011a. Insecticide resistance in field populations of Asian citrus psyllid in Florida. *Pest Management Science*, 67(10): 1258–1268.
- Tiwari S, Pelz-Stelinski K, Mann RS, Stelinski LL, 2011b. Glutathione transferase and cytochrome P450 (general oxidase) activity levels in *Candidatus Liberibacter asiaticus*-infected and uninfected Asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 104(2): 297–305.
- Tiwari S, Pelz-Stelinski K, Stelinski LL, 2011c. Effect of *Candidatus Liberibacter asiaticus* infection on susceptibility of Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, to selected insecticides. *Pest Management Science*, 67(1): 94–99.
- Vázquez-García M, Velázquez-Monreal J, Medina-Urrutia VM, Jesús Cruz-Vargas C, Sandoval-Salazar M, Virgen-Calleros G, Torres-Morán JP, 2013. Insecticide resistance in adult *Diaphorina citri* Kuwayama1 from lime orchards in central West Mexico. *Southwestern Entomologist*, 38(4): 579–596.
- Wang QZ, Liu YM, Li SM, Zhao Y, Wang W, 2018. Chemical composition of essential oil of the invasive plant *Praxelis clematidea* and its repellence and lethality to *Diaphorina citri*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 55(1): 117–125. [王奇志, 刘育梅, 李书明, 赵颖, 王伟, 2018. 假臭草花精油的化学组成及对柑橘木虱的驱避和致死活性. 应用昆虫学报, 55(1): 117–125.]
- Wang SQ, Xiao YL, Zhang HY, 2015. Studies of the past, current and future potential distributions of *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae) in China. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 52(5): 1140–1148. [汪善勤, 肖云丽, 张宏宇, 2015. 我国柑橘木虱潜在适生区分布及趋势分析. 应用昆虫学报, 52(5): 1140–1148.]
- Yu X, Killiny N, 2018. RNA interference of two glutathione S-transferase genes, *Diaphorina citri* DcGSTe2 and DcGSTd1, increases the susceptibility of Asian citrus psyllid (Hemiptera: Liviidae) to the pesticides fenpropathrin and thiamethoxam. *Pest Management Science*, 74(3): 638–647.
- Zhang YX, Sun L, Lin JZ, Chen X, Ji J, 2013. Responses of the predatory mite *Neoseiulus cucumeris* to life stages and secretions of *Diaphorina citri*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 50(2): 447–453. [张艳璇, 孙莉, 林坚贞, 陈霞, 季洁, 2013. 柑橘木虱及分泌物对胡瓜新小绥螨的吸引作用研究. 应用昆虫学报, 50(2): 447–453.]