



棉铃虫对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的抗性遗传力

董利霞, 芮昌辉*, 谭晓伟, 任 龙

(中国农业科学院植物保护研究所 / 农业部农药化学与应用重点开放实验室, 北京 100193)

摘要: 为了评估棉铃虫对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的抗性风险, 在室内进行了棉铃虫对该药剂的抗性选育和现实遗传力分析。连续用甲维盐对棉铃虫选育 25 代, 与同源对照种群相比, 获得抗性倍数为 2.974 倍的汰选种群。采用阈性状分析方法, 获得棉铃虫对甲维盐的抗性现实遗传力 (h^2) 为 0.05218。进一步预测其抗性发展速度, 假设以 90% 致死率继代处理棉铃虫, 其抗性达到 5 倍、10 倍分别需要 18.67 代和 26.71 代。

关键词: 棉铃虫; 甲维盐; 抗性风险; 抗性选育; 现实遗传力; 抗性倍数

中图分类号: S435.622 文献标志码: A

文章编号: 1002-7807(2011)03-0195-05

Realized Heritability of Resistance to Emamectin Benzoate in *Helicoverpa Armigera* (Hübner)

DONG Li-xia, RUI Chang-hui*, TAN Xiao-wei, REN Long

(Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Pesticide Chemistry & Application, Ministry of Agriculture, Beijing 100193, China)

Abstract: In order to evaluate the resistance risk of *Helicoverpa armigera* to emamectin benzoate, the resistance selection and realized heritability of *H. armigera* were analysed in the laboratory. The insecticide-treated population developed 2.974-fold resistance to the insecticide comparing with the homologous control population, after 25 generations of resistance selection with emamectin benzoate. Realized heritability (h^2) of resistance in selection stages was evaluated based on the Tabashnik's methods. The results showed that h^2 for the entire selection experiment was 0.05218. To predict the development of resistance, it required 18.67 and 26.71 generations of *H. armigera* to obtain 5-fold and 10-fold increase of emamectin benzoate in LC_{50} under selection pressure at 90% mortality for each generation of selection.

Key words: *Helicoverpa armigera*; emamectin benzoate; resistance risk; resistance selection; realized heritability; resistance ratio

棉铃虫(*Helicoverpa armigera* Hübner)属鳞翅目夜蛾科棉铃虫属, 是一种世界性害虫。文献报道田间棉铃虫种群对有机氯、有机磷、氨基甲酸酯、拟除虫菊酯类农药的抗性最高已达到上千倍, 对昆虫生长调节剂类杀虫剂也产生不同程度的抗性^[1-7]。因此, 棉铃虫抗药性已经成为农药能否长期、有效使用的限制性因素。

甲氨基阿维菌素苯甲酸盐(简称甲维盐, emamectin benzoate)是以土壤微生物阿维链霉菌发酵产物阿维菌素 B₁ 为母体化合物, 进行衍生、优化合成的一种新型高效抗生素类杀虫、杀螨剂^[8],

其作用靶标为谷氨酸盐门控氯离子通道, 同时也作用于 γ -氨基丁酸(GABA)受体^[9]。甲维盐诱导昆虫神经系统氯离子通道发生不可逆激活, 增加神经膜氯离子渗透, 导致细胞丧失正常生理功能, 从而阻断运动神经信息传递, 致使害虫中央神经系统的信号不能被运动神经元接收^[10-12]。此外, 还有一种假说是阿维菌素类杀虫剂延长了 GABA 的释放时间, 导致昆虫神经传导受阻^[13]。甲维盐具有广谱、高效, 低毒(制剂近无毒)、低残留和不易产生抗性等优点, 广泛应用于蔬菜、茶叶、棉花等经济作物防治害虫。

收稿日期: 2010-12-09

作者简介: 董利霞(1984-), 女, 在读硕士, my.dreams.ok@163.com; * 通讯作者, chrui@ippcaas.cn

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划(2006BAD08A03); 公益性行业(农业)科研专项(200903033)

抗药性风险评估是害虫抗药性研究的重要内容之一,可为药剂的合理使用及避免田间抗性的暴发提供理论依据。本文通过室内用甲维盐对棉铃虫进行抗性选育,分析棉铃虫对甲维盐的抗性遗传力并对其抗药性风险进行评估。

1 材料和方法

1.1 材料

药剂:89%甲氨基阿维菌素苯甲酸盐(B_{1a})原药,河北威远生物化工股份有限公司生产;将原药用N,N-二甲基甲酰胺(DMF)配制成0.05%的母液,保存于冰箱(-20℃)。

棉铃虫:2005年采集于河北省冀州市棉田种群,一部分用甲维盐进行抗性选育获得汰选种群;另一部分于室内自然饲养,饲养期间不接触任何药剂,作为汰选种群的同源对照种群。棉铃

虫饲养及试验条件:温度(27±1)℃,湿度80%~90%,光周期L:D=14h:10h。室内饲养技术参照范贤林等^[14]。

1.2 抗药性选育

将0.05%的甲氨基阿维菌素苯甲酸盐母液,用含0.1%曲拉通X-100的水溶液稀释到一定浓度,浸棉花叶10s后取出晾干,放入底部加有消毒滤纸的培养皿(150mm)中,接入棉铃虫初孵幼虫,每皿200头,3次重复,其余不计数若干皿;另设3皿溶剂对照,每皿100头。饲喂2d后,记录死亡率并将活虫移至人工饲料中饲养。控制幼虫死亡率在50%~80%之间,并参考药剂处理后化蛹情况调整下一次药剂选育强度,逐渐提高药剂选育浓度^[15]。棉铃虫汰选种群在室内饲养繁殖27代,其中用甲维盐选育了25代。对每代初孵幼虫的药剂选育浓度和校正死亡率见表1。

表1 甲维盐对棉铃虫抗性选育浓度和校正死亡率

Table 1 Selection concentration and corrected mortality of *Helicoverpa armigera* to emamectin benzoate

选育代数 Selection generation	选育浓度 Selection concentration /($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	校正死亡率 Corrected mortality /%	选育代数 Selection generation	选育浓度 Selection concentration /($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	校正死亡率 Corrected mortality /%
1	0.002	71.9	14	0.006	63.7
2	0.002	24.8	15	0.006	42.6
3	0.003	45.8	16	0.006	53.9
4	0.003	68.3	17	0.007	74.8
5	0.003	76.8	18	0.007	80.3
6	0.004	44.8	19	0.008	88.2
7	0.004	24.0	19*	—	—
8	0.004	37.9	20	0.008	79.8
9	0.005	83.3	21	0.008	53.5
9*	—	—	22	0.008	67.4
10	0.004	51.7	23	0.008	58.4
11	0.004	17.5	24	0.008	46.3
12	0.005	38.0	25	0.009	45.0
13	0.006	49.2			

注:“*”上一代死亡率较高,未用药剂选育。

Note: “*” No selecting by insecticide for high mortality of the previous generation.

1.3 毒力测定

采用杀虫剂抗性行动委员会(IRAC)^[16]推荐的叶片药膜法,每选育2~3代,对汰选种群和同源对照种群进行一次毒力测定。配制6个药剂浓度梯度,以0.1%曲拉通溶剂为对照。将棉花叶在药液中浸渍10s,取出晾干放入10孔盒,接入大小一致的3龄初幼虫。每处理重复3次,每重复10头试虫。72h检查死亡虫数,以镊子轻触虫体,

不能正常反应视为死亡。用DPS软件进行数据分析。

1.4 现实遗传力估算

根据Tabashnik^[17]方法估算现实遗传力 h^2 , $h^2 = R/S$; $R = \lg(\text{汰选种群 } LC_{50}/\text{对照种群 } LC_{50})/n$; $S = i \times \delta_p$; $i \approx 1.583 - 0.0193336p + 0.0000428p^2 + 3.65194/p (10 \leq p \leq 80)$; $p = (1 - \text{平均校正死亡率}) \times 100$; $\delta_p = 1/\text{平均斜率}$ 。各种参数含义:平均校正死

亡率;选育过程中各代死亡率用 Abbott 公式校正后的平均值;平均斜率:选育过程中各次生物测定斜率的平均值; i :选育强度; δ_p :表现型标准差; S :选择差异,表示受选亲本与整个亲本代间的平均表现型差异; R :选择反应,表示选育子代与选育前整个亲代间的平均表现型值之差; n :选育代数; h^2 :现实遗传力。

1.5 抗药性风险评估

根据现实遗传力 h^2 ,可以预测抗性达到 x 倍所需选育代数 [$G = \lg(x) / (h^2 S)$],以及不同选择压力(50%~99%)下,抗性达到 5 倍所需的代数 $G = \lg(5) / (h^2 S)$;抗性达到 10 倍所需的代数 $G = \lg(10) / (h^2 S)$ 。

2 结果与分析

2.1 甲维盐对棉铃虫的抗性选育

选育期间,甲维盐对棉铃虫汰选种群和同源对照种群毒力测定结果见表 2。为了避免棉铃虫生长状态和棉叶季节差异对农药毒力测定的系统误差的影响,本试验采用同期生长状况一致的棉花叶片对同源对照种群和汰选种群同时进行毒力测定,以同期测定的汰选种群的 LC_{50} 值与对照种群的 LC_{50} 值的比值作为抗性倍数。在选育过程中同一个种群不同时间的毒力测定结果存在较大的波动,推测还可能与各代选育强度的差异及棉铃虫抗性基因频率的不稳定有关。

表 2 甲维盐对棉铃虫 3 龄幼虫 72 h 毒力测定

Table 2 Toxicity of emamectin benzoate to the third instar larvae of *Helicoverpa armigera* in 72 hours

世代 Generation	种群 Population	LC_{50} (95% 置信限) (95% Credible limit)/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	回归方程($y=$) Regression equation	相关系数(r) Correlation coefficient	抗性倍数 ^a Resistance ratio
0	S ^b	0.0188(0.0156~0.0228)	2.0652x+8.563	0.986	—
3	S ^b	0.0397(0.0314~0.0501)	1.759x+7.464	0.980	1.373
	R ^c	0.0545(0.0381~0.0778)	1.113x+6.407	0.952	
6	S ^b	0.0375(0.0266~0.0528)	3.408x+9.860	0.953	1.675
	R ^c	0.0628(0.0463~0.0852)	1.879x+7.259	0.971	
8	S ^b	0.0213(0.0187~0.0243)	2.593x+9.334	0.995	1.939
	R ^c	0.0413(0.0334~0.0510)	1.387x+6.919	0.990	
10	S ^b	0.0363(0.0340~0.0388)	2.657x+8.826	0.998	1.286
	R ^c	0.0467(0.0378~0.0576)	1.958x+7.606	0.994	
13	S ^b	0.0302(0.0282~0.0324)	3.400x+10.167	0.998	2.613
	R ^c	0.0789(0.0743~0.0837)	2.927x+8.229	0.998	
16	S ^b	0.0191(0.0155~0.0235)	2.0244x+8.480	0.982	2.565
	R ^c	0.0490(0.0459~0.0524)	3.804x+9.982	0.994	
19	S ^b	0.0134(0.0120~0.0151)	2.161x+9.0452	0.986	2.321
	R ^c	0.0311(0.0299~0.0325)	2.653x+8.997	0.999	
22	S ^b	0.0270(0.0252~0.0291)	3.898x+11.111	0.993	2.548
	R ^c	0.0688(0.0566~0.0836)	2.220x+7.581	0.968	
25	S ^b	0.0153(0.0135~0.0172)	2.254x+7.581	0.994	2.974
	R ^c	0.0455(0.0402~0.0516)	4.508x+11.0482	0.977	

注: a:抗性倍数 = 汰选种群 LC_{50} / 同源对照种群 LC_{50} ; b:同源对照种群; c:汰选种群。

Note: a: resistance ratio= LC_{50} of the selected population/ LC_{50} of the homologous control population; b: the homologous control population; c: the selected population.

甲维盐对选育 25 代的棉铃虫种群 LC_{50} 值为 $0.0455 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 与同期测定的对照种群 LC_{50} 值 ($0.0153 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)相比,抗性倍数为 2.974。试验结

果表明,棉铃虫经甲维盐抗性选育 25 代后,虽然敏感性降低,但尚未达到抗性水平。说明棉铃虫对甲维盐的抗性发展是比较缓慢的。

2.2 棉铃虫对甲维盐的抗性现实遗传力

以 0.8895 的选择强度用甲维盐对棉铃虫种群选育 25 代, 利用 Tabashnik 等的阈性状分析

法, 计算获得棉铃虫对甲维盐的抗性现实遗传力 (h^2) 为 0.05218 (表 3)。

表 3 棉铃虫对甲维盐的抗性现实遗传力估算

Table 3 Estimation of realized heritability of resistance to emamectin benzoate in *Helicoverpa armigera*

选育代数 Selection generation	平均选择反应 Estimate of mean response				平均选择差异 Estimate of mean selection differential				现实遗传力 (h^2) Realized heritability
	对照种群 LC ₅₀ of the control population /($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	汰选种群 LC ₅₀ of the selected population /($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	选择反应 (R) Response of selection	存活率 Livability /%	选择强度 (i) Intensity of selection	平均斜率 Mean slope	表现型标准 差(δ_p) Phenotypic standard deviation	选择差异 (S) Selection differential	
25	0.0153	0.0455	0.01893	44.5	0.8895	2.4514	0.4079	0.3628	0.05218

2.3 棉铃虫对甲维盐的抗药性风险评估

根据选育试验所得毒力回归线的平均斜率为 2.4514, 即标准差 $\delta_p=0.4079$ 及抗药性现实遗传力值 $h^2=0.05218$, 假设单独、继代使用甲维盐防治棉铃虫, 以及不同选择压力(50%~99%)下, 对抗性达到 x 倍所需的代数 [$G = \lg(x) / (h^2 S) = \lg(x) / (h^2 \times i \times \delta_p)$] 进行了预测。如图 1 所示, 杀死率分别为 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 和 99% 时, 抗性达到 5 倍所需代数分别为 41.24, 33.88, 28.23, 23.52, 18.67, 6.30 代; 抗性达到 10 倍所需代数分别为 59.00, 48.46, 40.39, 33.65, 26.71, 9.01 代。棉铃虫对甲维盐的抗性发展速率随药剂杀死率的提高而加快。而田间条件下, 由于等位基因频率变化、环境变异等因素的影响, 抗性增加则

更缓慢。

3 讨论

昆虫对杀虫剂产生抗性的难易程度及抗性发展速度主要与昆虫的生物学特性和抗性遗传、杀虫剂的理化结构和作用特点及使用技术等因素有关。一种新药剂应用前或害虫还未对其产生抗性前, 在室内进行抗性选育, 评估其抗性风险, 可以为该药剂的合理使用及抗性预防策略的制定、实施提供理论依据^[18]。

本实验用甲维盐在室内连续选育棉铃虫 25 代, 汰选种群与同源对照种群相比, 抗性倍数仅为 2.974 倍, 估算得现实遗传力为 0.05218, 小于沈福音等^[19]报道的室内用阿维菌素选育小菜蛾 27 代, 抗性达 812.73 倍, 抗性遗传力为 0.1208; 小于文献报道的有机磷类、菊酯类、灭多威、甲氧虫酰肼对棉铃虫选育 12~33 代, 抗性倍数为 5.84~32.99, 抗性遗传力为 0.0830~0.2027^[20-23]。试验结果表明, 与阿维菌素和一些常规药剂比较, 甲维盐的抗性现实遗传力较低, 抗药性风险相对较小。

根据本试验结果和相关文献报道, 在田间选择农药使用策略时, 在防治存在抗药性的害虫时, 由于甲维盐具有较低的抗性风险, 与其他药剂间的交互抗性水平也较低, 使用甲维盐进行棉铃虫等害虫的防治具有更好的科学依据。

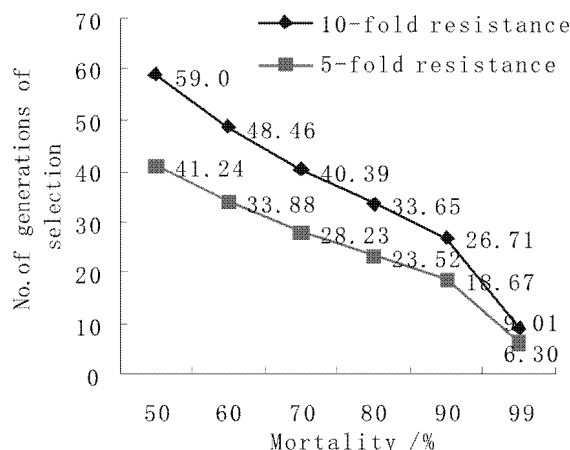


图 1 不同杀死率下棉铃虫对甲维盐抗性达 5 倍、10 倍所需代数

Fig. 1 No. of generations of *Helicoverpa armigera* to obtain 5-fold and 10-fold resistance to emamectin benzoate under different mortality for each generation of selection

参考文献:

[1] WILSON A G. Resistance of *Heliothis armigera* to insecticides in

- the Ord irrigation area, North Western Australia[J]. Journal of Economic Entomology, 1974, 66: 523-524.
- [2] DURAIMRUGAN G, Regupathy A. Synthetic pyrethroid resistance in field strains of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) in Tamil Nadu, South India[J]. American Journal of Applied Sciences, 2005, 2(7): 1146-1149.
- [3] WU Kong-ming, Liang Ge-mei, Guo Yu-yuan. Phoxim resistance in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera:Noctuidae) in China [J]. Journal of Economic Entomology, 1997, 90(4): 868-872.
- [4] 孟香清, 芮昌辉, 范贤林, 等. 华北和新疆棉铃虫对三类农药抗性发展趋势分析[J]. 农药学报, 2000, 3(2):53-56.
- MENG Xiang-qing, Rui Chang-hui, Fan Xian-lin, et al. Resistance dynamics to three types of insecticides in *Helicoverpa armigera* (Hübner) in North China, and Xinjiang from 1996 to 1999[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2000, 3(2): 53-56.
- [5] 芮昌辉, 孟香清, 范贤林. 冀鲁豫和新疆棉铃虫的抗性[J]. 植物保护学报, 1999, 26(3):260-264.
- RUI Chang-hui, Meng Xiang-qing, Fan Xian-lin. Resistance to insecticides in *Helicoverpa armigera* in Hebei, Henan, Shandong and Xinjiang[J]. Acta Phytopylacica Sinica, 1999, 26(3):260-264.
- [6] ARMES N J, Jadhav D R, Bond G S, et al. Insecticides resistance in *Helicoverpa armigera* in South India[J]. Pesticide Science, 1992, 34(4): 355-364.
- [7] MCCAFFERY A R. Resistance to insecticides in Heliothine Lepidoptera: a global view[J]. The Royal Society, 1998, 353: 1735-1750.
- [8] IORIATTI C, Anfora G, Angeli G, et al. Toxicity of emamectin benzoate to *Cydia pomonella* (L.) and *Cydia molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae): laboratory and field tests [J]. Pest Management Science, 2009, 65: 306-312.
- [9] WANG Li-hua, Wu Yi-dong. Cross-resistance and biochemical mechanisms of abamectin resistance in the B-type *Bemisia tabaci* [J]. Journal of Applied Entomology, 2007, 131(2): 98-103.
- [10] PONG Sheng-shung, Wang Ching C, Fritz L C. Studies on the mechanism of action of avermectin B_{1a}: stimulation of release of γ -aminobutyric acid from brain synaptosomes [J]. Journal of Neurochemistry, 1980, 34(2): 351-358.
- [11] AHMAD M, Sayyed A H, Saleem M A, et al. Evidence for field evolved resistance to newer insecticides in *Spodoptera litura* (Lepidoptera:Noctuidae) from Pakistan[J]. Crop Protection, 2008, 27: 1367-1372.
- [12] AHMAD M, Arif I M, Ahmad Z. Susceptibility of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera:Noctuidae) to new chemistries in Pakistan[J]. Crop Protection, 2003, 22: 539-544.
- [13] 毕富春, 赵建平. 氨基阿维菌素苯甲酸盐对主要害虫药效概述[J]. 现代农药, 2003(2):4-36.
- BI Fu-chun, Zhao Jian-ping. The outline of activities of emamectin benzoate against major insects of China[J]. Modern Agrochemicals, 2003(2): 4-36.
- [14] 范贤林, 卢美光, 孟香清, 等. 棉铃虫室内饲养技术的改进[J]. 昆虫知识, 2003, 40(1):85-87.
- FAN Xian-lin, Lu Mei-guang, Meng Xiang-qing, et al. An improved rearing technique for *Helicoverpa armigera* [J]. Chinese Bulletin of Entomology, 2003, 40(1): 85-87.
- [15] 范贤林, 芮昌辉. 棉铃虫对虫酰肼的抗药性汰选[J]. 植物保护, 2006, 32(1):98-100.
- FAN Xian-lin, Rui Chang-hui. Tebufenozide resistance selection of cotton bollworm, *Heliothis armigera* (Hübner)[J]. Plant Protection, 2006, 32(1): 98-100.
- [16] Anonymous. Proposed insecticide/acaricide susceptibility tests, IRAC method No. 7[J]. Bull Eur Plant Prot Org, 1990, 20: 399-400.
- [17] TABASHNIK B E, McGaughey W H. Resistance risk assessment for single and multiple insecticide: response of Indian mealmoth (Lepidoptera: Pyralidae) to *Bacillus thuringiensis*[J]. Journal of Economic Entomology, 1994, 87(4): 834-841.
- [18] 王建军, 董红刚, 袁林泽. 斜纹夜蛾对茚虫威的抗性汰选及交互抗性测定[J]. 植物保护学报, 2008, 35(6):525-529.
- WANG Jian-jun, Dong Hong-gang, Yuan Lin-ze. Selection for indoxacarb resistance in *Spodoptera litura* and investigation on cross-resistance in the selected population[J]. Acta Phytopylacica Sinica, 2008, 35(6): 525-529.
- [19] 沈福音, 张树发, 陈素馨, 等. 小菜蛾对阿维菌素的敏感度及抗性现实遗传力的分析[J]. 中国植保导刊, 2006, 26(2):5-7.
- SHEN Fu-yin, Zhang Shu-fa, Chen Su-xin, et al. Analysis on symptomatic heritability of *Plutella xylostella* resistance to abamectin[J]. China Plant Protection, 2006, 26(2): 5-7.
- [20] 刘娟, 芮昌辉, 范贤林, 等. 棉铃虫对甲氧虫酰肼的抗性遗传力[J]. 植物保护学报, 2009, 36(4):349-353.
- LIU Juan, Rui Chang-hui, Fan Xian-lin, et al. Realized heritability of resistance to methoxyfenozide in *Helicoverpa armigera* (Hübner)[J]. Acta Phytopylacica Sinica, 2009, 36(4): 349-353.
- [21] 林祥文, 沈晋良. 棉铃虫对辛硫磷抗性的风险评估与预报[J]. 昆虫学报, 2001, 44(4):462-467.
- LIN Xiang-wen, Shen Jin-liang. Risk assessment and prediction of resistance to phoxim in *Helicoverpa armigera*[J]. Acta Entomologica Sinica, 2001, 44(4): 462-467.
- [22] 叶蔚锋, 沈晋良, 吕梅. 棉铃虫对丙溴磷抗性风险评估、预报及交互抗性研究[J]. 棉花学报, 2003, 15(5):293-297.
- YE Wei-feng, Shen Jin-liang, Lü Mei. Risk assessment and prediction of resistance to profenofos in cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* and cross-resistance to other insecticides[J]. Cotton Science, 2003, 15(5): 293-297.
- [23] 茹李军, 芮昌辉, 范贤林, 等. 菜缢管蚜、棉铃虫对杀虫混剂及其单剂的抗性遗传力分析[J]. 昆虫学报, 1998, 41(3):243-249.
- RU Li-jun, Rui Chang-hui, Fan Xian-lin, et al. Realized heritability analysis of resistance to single and multiple insecticides in *lipaphis erysimi* (kaltenbach) and *Helicoverpa armigera* (Hübner)[J]. Acta Entomologica Sinica, 1998, 41(3): 243-249.

