环境昆虫学报 2017，39（4）：791－799
Journal of Environmental Entomology
http：//hjkcxb. alljournals. net
doi：10. 3969/j. issn. 1674－0858. 2017. 04. 8

姚其，曾玲，梁广文，等. 高效氯氰菊酯不同汰选频度条件下桔小实蝇高抗品系抗药性发展动态［J］. 环境昆虫学报，2017，39（4）：791－799.

高效氯氰菊酯不同汰选频度条件下桔小实蝇高抗品系抗药性发展动态

姚 其，曾 玲，梁广文*，陆永跃*
（华南农业大学昆虫学系，广州 510642）

摘 要：为了研究高效氯氰菊酯不同施用强度对桔小实蝇 *Bactrocera dorsalis*（Hendel）高抗品系抗药性发展动态的影响，为指导田间科学合理使用高效氯氰菊酯防治该虫提供理论依据，本文以室内培育的桔小实蝇对高效氯氰菊酯高抗品系成虫为研究对象，以高效氯氰菊酯对敏感品系的毒力作为毒力基准线，按高效氯氰菊酯汰选间隔时间长短设置 30 d、60 d、90 d、120 d 4 个处理，以在不接触药剂常规条件下饲养的高抗品系作对照，采用药膜法进行抗药性汰选和毒力测定，每 30 天试验 1 次，共计试验 10 次，获得致死中浓度（LC_{50}）和抗性倍数（R_m），分析抗性发展动态与汰选间隔时间的关系。研究结果表明 270 d 后，不同间隔时间长度汰选处理，桔小实蝇高抗品系对高效氯氰菊酯的抗药性发展动态存在明显差异，总体表现为汰选间隔时间越短，抗性增长越快。30 d 汰选 1 次处理，高效氯氰菊酯对桔小实蝇成虫的致死中浓度从第 1 次的 582. 7 mg/L 上升到 1133. 6 mg/L，抗性倍数从 98. 0 倍上升到 190. 7 倍；60 d 汰选 1 次处理，致死中浓度上升为 828. 0 mg/L，抗性倍数上升为 139. 3 倍；90 d 汰选 1 次处理，致死中浓度为 529. 2 mg/L，抗性倍数为 89. 0 倍；120 d 汰选 1 次处理，致死中浓度、抗性倍数分别为 511. 3 mg/L、86. 0 倍；未进行汰选的抗性品系致死中浓度由 582. 7 mg/L 下降到 368. 1 mg/L，抗性倍数也从 98. 0 倍下降到 61. 9 倍。建立了 270 d 后高效氯氰菊酯汰选间隔时间与桔小实蝇成虫抗药性增长比率之间的关系方程为 $Y=11.427X^{-0.529}$。由实验室模拟实验结果预测当果园中连续两次使用间隔时间在 99 d 以上时，应可降低桔小实蝇对高效氯氰菊酯的抗性继续上升的风险。

关键词：桔小实蝇；高效氯氰菊酯；高抗品系；汰选间隔时间；抗性发展
中图分类号：Q965. 9；S481^{+}. 4 **文献标识码**：A **文章编号**：1674－0858（2017）04－0791－09

Dynamic of resistance of *Bactrocera dorsalis*（Hendel）high-resistant strain under selection by beta-cypermethrin with different frequency

YAO Qi，ZENG Ling，LIANG Guang-Wen*，LU Yong-Yue*（Department of Entomology，South China Agricultural University，Guangzhou 510642，China）

Abstract：To study on the resistance dynamic of *Bactrocera dorsalis*（Hendel）high-resistant strain under using beta-cypermethrin with different frequency，for purpose of providing the basis for scientific and rational usage of beta-cypermethrin to control this pest in the fields，*B. dorsalis* adults with high resistance to beta-cypermethrin selected under the laboratory conditions were tested，and the toxicity of beta-cypermethrin to the susceptible strain was toxicity baseline. Depending on the time interval length of selection with beta-cypermethrin，four treatments including 30 d，60 d，90 d and 120 d were set. The high resistance strain without contacting pesticides kept continuously under normal conditions was as control. The

基金项目：国家重点研发计划项目（2016YFC1201200）；广州市科技计划项目（201601010179）
作者简介：姚其，男，1986 年生，广西灵山人，硕士研究生，研究方向为害虫控制，E－mail：269yao103@163. com
* 通讯作者 Author for correspondence，E－mail：luyongyue@scau. edu. cn；gwliang@scau. edu. cn
收稿日期 Received：2017－04－06；接受日期 Accepted：2017－05－23

resistance-selection and toxicity assay both with the pesticide film method were determined once every 30 days, and these tests reached ten times totally. The analysis of the relationship between the resistance dynamics and the selection time intervals was based on the median lethal concentration (LC_{50}) and resistant multiple (R_m) . The results showed that, 270 days after treatment, there were obvious differences among the resistance development for *B. dorsalis* strains to beta-cypermethrin at different time interval selections, and as the selected time interval was shorter, the resistance increased faster. At the treatment of once selection every 30 days, LC_{50} of *B. dorsalis* adults to beta-cypermethrin rose to 1133.6 mg/L from the first time 582.7 mg/L, and R_m also rose to 190.7 folds from 98.0 folds. When the selection was taken once every 60 days, LC_{50} and R_m were 828.0 mg/L and 139.3 folds, respectively. LC_{50} was 529.2 mg/L and R_m was 89.0 folds at the treatment of once every 90 days. LC_{50} and R_m were 511.3 mg/L and 86.0 folds, respectively, at the treatment of once every 120 days. LC_{50} of the resistant strain without resistance-selection decreased to 368.1 mg/L from the first time 582.7 mg/L, and R_m also decreased to 61.9 folds from 98.0 folds. The equation $Y = 11.427X^{-0.529}$ can well describe the relationship between the selection time interval of beta-cypermethrin and the growth rate of *B. dorsalis* adult resistance in 270 days. According to those results, it was predicted that the resistance of *B. dorsalis* to beta-cypermethrin would not rise in 270 days, when the time interval between the two successive usages for that insecticide in the orchards was over 99 days.

Key words: *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ; beta-cypermethrin; high-resistant strain; selection time interval; resistance development

桔小实蝇 *Bactrocera dorsalis* (Hendel) 是我国尤其是华南地区重要的果蔬害虫 (刘玉章，1981; 李文蓉，1988; 林进添等，2004; 黄素青和韩日畴，2005) 。该虫原产于亚洲热带和亚热带地区，最早发现于 1911 年台北郊区柑橘园，目前主要分布于亚洲东南部及太平洋沿岸一些国家，如印度、巴基斯坦、孟加拉国、中国南部、柬埔寨、尼泊尔、越南、老挝、缅甸、泰国、斯里兰卡、夏威夷、法属波利尼西亚等 (刘玉章，1981; Clarke *et al.*，2005; Stephens *et al.*，2007; Wan *et al.*，2012) 。上世纪 80 年代，我国华南地区桔小实蝇仅仅局部发生，危害较轻，90 年代以来为害急剧加重，并逐渐扩散至长江以北，目前主要分布于华南和西南大部分地区、华中和华东部分地区 (梁广勤，1985; 侯柏华和张润杰，2005; Wan *et al.*，2011) 。该虫以幼虫在果实内蛀食为害，造成落果、烂果，严重影响产量和品质，田间危害率一般在 20% – 30%，在部分地区、对部分水果种类危害率可达 80% 以上，经济损失巨大 (林进添等，2004; 黄素青和韩日畴，2005; 黄月英和陈军，2006; 梁帆等，2008) 。

由于桔小实蝇具食性范围广、潜藏危害、成虫寿命长、繁殖力强、传播速度快等生物特性，防治十分困难。近三十年来，国内外在该虫治理方面开展了大量研究工作，开发并推广应用了多种防治技术措施 (Purcell *et al.*，1994; Seewooruthun *et al.*，1997; Armstrong and Follett，2007; 孟倩倩等，2012; 潘志萍等，2015) 。因成本相对较低、操作简单、见效快，化学防治一直是世界各国防治桔小实蝇的主要方法 (刘玉章，1981; 李文蓉，1988; 林进添等，2004) 。但是，长期大范围、不合理使用农药导致了桔小实蝇抗药性的产生和发展。例如，对广州郊区该虫抗药性监测显示，2003 年 – 2007 年该虫对高效氯氰菊酯抗性从敏感水平上升到了中抗水平，且有继续向上发展的趋势 (潘志萍等，2005; 章玉苹等，2007; 章玉苹，2008; Jin *et al.*，2011) 。因此，如何应对和解决桔小实蝇抗药性产生和快速增长问题是该虫治理中一项重要问题。

自 2000 年开始，国内外已在桔小实蝇种群抗药性监测、抗药性产生与发展规律、抗药性生化与分子机制等方面开展了系列研究，并获得了较为丰富的研究成果，已发表论文近 40 篇。台湾大学许如君及其团队重点研究了桔小实蝇对多杀菌素、马拉硫磷、杀螟松、安硫磷、二溴磷等农药抗性产生、生物学及其机制 (许如君和冯海东，2000; 许如君和冯海东，2002; Hsu *et al.*，2004; 许如君等，2004; Hsu and Feng，2006; Hsu *et al.*，2006；Hsu *et al.*，2007；Fang *et al.*，2011；Hsu *et al.*，2011；Vontas *et al.*，2011；Hsu *et al.*，2012；Okuyama and Hsu，2013；Hsu *et al.*，2015；Kuo *et al.*，2015；Hsu *et al.*，2016）。笔者所在团队研究建立了杀虫剂对桔小实蝇毒力监测的标准化方法（Lin *et al.*，2013）和多类型杀虫剂对桔小实蝇成虫触杀作用的毒力敏感基线（林玉英等，2010），监测明确了国大陆桔小实蝇抗药性水平、发展动态和实验种群对敌百虫、高效氯氰菊酯、阿维菌素等的抗性增长规律（潘志萍等，2005；章玉苹等，2007；潘志萍等，2008；章玉苹等，2008a；章玉苹等，2008b；Jin *et al.*，2011），比较分析了抗高效氯氰菊酯、敌百虫、多杀霉素品系种群生物学和相对适合度（章玉苹等，2009；Zhang *et al.*，2010；李培征等，2014；陈朗杰等，2015），评估了桔小实蝇对多杀霉素的抗药性风险以及抗性个体流动对群体中抗性个体频率、抗性发展的影响（金涛等，2011；李培征等，2012）。在抗性产生的机制方面，应用电子显微技术研究发现桔小实蝇抗高效氯氰菊酯品系在表皮角质层厚度、脂肪体、几丁质层片层结构以及细胞空隙等均与敏感品系存在差异（Lin *et al.*，2012），与敏感品系相比不同抗性品系微卫星 DNA 多态性已产生了变异（潘志萍等，2006），比较了 9 个地理品系桔小实蝇几种解毒酶活性和对不同杀虫剂的抗性水平的关系（金涛等，2014），发现抗性品系表皮对高效氯氰菊酯具有抵抗穿透作用，并且代谢能力显著增强（Lin *et al.*，2012）。应用双向电泳技术分析药剂响应蛋白发现桔小实蝇对敌百虫、高效氯氰菊酯、阿维菌素等响应速度不同，体内有多类蛋白质参与这三种杀虫剂的响应代谢（Jin *et al.*，2010；Jin *et al.*，2012）。Wang *et al.*（2016）研究揭示桔小实蝇对马拉硫磷抗性遗传符合常染色体不完全显性与多基因遗传模式，其抗性产生与 3 个主要解毒酶活性显著升高相关。但是，关于桔小实蝇抗药性发展变化与化学杀虫剂使用频度等关系研究尚未见报道，这正是在抗药性治理中避免产生抗药性或者维持或者降低抗药性程度时杀虫剂使用间隔时间确定的理论依据。本研究选择防治桔小实蝇常用杀虫剂高效氯氰菊酯，研究了在该药不同汰选频度条件下该实蝇的高抗品系抗药性发展动态规律，从而确定避免抗药性水平上升的高效氯氰菊酯使用间隔时间，为抗性治理工作中指导田间合理用药提供指导。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

桔小实蝇敏感品系：虫源采自广州市杨桃公园，在室内进行继代饲养，饲养环境：温度25℃－28℃，相对湿度 60% ±10%，光周期 16 L∶8 D。

桔小实蝇高抗品系：将野外采回的成虫进行产卵并继代培育，饲养环境同上，用高效氯氰菊酯进行逐代汰选至 48 代，获得桔小实蝇对高效氯氰菊酯高抗品系（Strain of High Level of Resistance to Beta-cypermethrin，BC-H）。

1.2 供试药剂

96% 高效氯氰菊酯原药，天津市华宇农药有限公司生产；丙酮，分析纯 A. R.，广州化学试剂厂生产。

1.3 实验方法

1.3.1 敏感品系和毒力基准线

用与抗性品系相同的虫源在不接触任何杀虫剂下饲养 58 代培育成敏感品系，建立高效氯氰菊酯对该敏感品系的毒力基准线（F_0），测定其致死中浓度为 5.954（5.223～6.807）mg/L。

1.3.2 汰选和毒力测定

汰选和毒力测定均采用药膜法，并参照潘志萍等（2008）方法进行。将高效氯氰菊酯汰选间隔时间分别设置为 30 d、60 d、90 d、120 d 4 个处理。实验开始第 1 天测定高效氯氰菊酯对该高抗品系成虫毒力，获得各处理初始 LC_{50} 和初始抗性倍数。其后，按照间隔时间采集成虫、测定高效氯氰菊酯毒力，结束后即使用高效氯氰菊酯（600 mg/L）对相应处理成虫群体进行汰选，以未接触杀虫剂的正常继代繁育的高抗品系为对照。本实验中桔小实蝇每代饲养、取样、测试周期为 30 d，共进行 10 代，最多汰选 8 次。

1.4 数据分析方法

采用 SPSS 统计软件分析处理数据，以汰选药剂浓度对数值为自变量，以死亡率机率值为因变量，计算出各处理毒力回归方程（Log concentration-probit line，LC-P line）、致死中浓度（Median lethal concentration，LC_{50}）、95% 置信区间（95% Confidence interval，95% CI）以及相关系数（Correlation coefficient，R）等参数。以汰选间隔时间为自变量，以最终抗性增长率为因变量，计

算、建立桔小实蝇抗性增长率与汰选时间频度间关系方程。以致死中浓度的95%置信限是否有重叠作为判断不同处理种群间药剂敏感度差异是否显著的标准，抗性水平划分标准以抗性倍数（Resistance multiple，R_m）为根据（唐振华，1993）。

抗性倍数（R_m）= 抗性品系 LC_{50}/敏感品系 LC_{50}

抗性增长率（Growth rate of resistance，G_R）= 最终抗性倍数/初始抗性倍数

2 结果与分析

2.1 不汰选情况下桔小实蝇高效氯氰菊酯高抗品系的抗性变化

保持桔小实蝇高效氯氰菊酯高抗品系成虫不接触杀虫剂，按照每30 d 1代周期进行正常繁育，在271 d测定高效氯氰菊酯毒力，建立毒力回归方程为 $y = -5.456 + 2.126x$（R = 0.9963），其 LC_{50} 从初始的582.738（450.886～754.091）mg/L下降到了368.095（258.822～488.949）mg/L，抗性从初始的98.022倍下降为61.917倍。说明经过270 d不接触任何杀虫剂的饲养，桔小实蝇对高效氯氰菊酯抗性已经明显衰退。

2.2 30 d汰选1次处理桔小实蝇对高效氯氰菊酯的抗性变化

从表1可看出，汰选前高效氯氰菊酯对桔小实蝇高抗品系成虫 LC_{50} 为582.738 mg/L，初始抗性是98.022倍。按照30天处理1次，第1次到到第9次处理后高效氯氰菊酯对桔小实蝇的 LC_{50} 逐渐增大，从587.804 mg/L上升到1133.639 mg/L，桔小实蝇对高效氯氰菊酯抗性也从98.874倍上升到190.688倍。第9次、第10次汰选时高效氯氰菊酯致死中浓度95%置信区间显著高于第1次、第2次，说明经过每30 d 1次连续9次汰选，桔小实蝇高效氯氰菊酯高抗品系成虫抗药性已经显著增大。建立30 d汰选1次频度下桔小实蝇对高效氯氰菊酯抗性倍数与汰选时间关系方程 $R_m = 96.897e^{0.0025T}$（$R^2 = 0.9840$），表明两者关系符合指数模型。

表1 30 d汰选1次时桔小实蝇成虫对高效氯氰菊酯的抗性动态

Table 1 Resistance of *B. dorsalis* adults to beta-cypermethrin while selection once in every 30 days

汰选次数 No. of selection	毒力测定时间（d）Time of toxicity determination	毒力回归方程 LC-P line	致死中浓度（mg/L）（95%置信区间）LC_{50}（95% CI）	相关系数（R）Correlation coefficient	抗性倍数（R_m）Resistance multiple
0	1	y = −7.024 + 2.540x	582.738（450.886～754.091）	0.9894	98.022
1	31	y = −6.800 + 2.456x	587.804（446.815～770.057）	0.9849	98.874
2	61	y = −8.612 + 3.033x	690.473（536.821～874.919）	0.9935	116.144
3	91	y = −5.001 + 1.742x	743.222（518.369～1086.654）	0.9737	125.016
4	121	y = −7.836 + 2.719x	762.416（586.260～999.633）	0.9813	128.245
5	151	y = −7.057 + 2.399x	875.395（647.086～1195.956）	0.9757	147.249
6	181	y = −8.359 + 2.826x	907.254（711.819～1186.275）	0.9721	152.608
7	211	y = −5.160 + 1.731x	957.621（664.419～1516.776）	0.9935	161.080
8	241	y = −8.565 + 2.838x	1042.598（797.009～1410.254）	0.9628	175.374
	271	y = −9.908 + 3.244x	1133.639（876.674～1467.648）	0.9726	190.688

2.3 60 d汰选1次处理桔小实蝇对高效氯氰菊酯的抗性变化

表2显示，在使用高效氯氰菊酯60 d处理1次情况下桔小实蝇抗药性呈持续上升趋势，61 d、121 d、181 d、240 d、271 d的毒力测定结果显示 LC_{50} 分别为677.627 mg/L、699.711 mg/L、733.848 mg/L、807.607 mg/L、827.957 mg/L，抗性倍数分别为113.983倍、117.697倍、123.440倍、135.846倍、139.270倍。相对于30 d汰选1次处理，该虫抗药性上升速度降低了约50%。建立该汰选频度下桔小实蝇对高效氯氰菊酯抗性倍数与汰选时间间隔关系方程为 $R_m = 101.22e^{0.0012T}$（$R^2 = 0.9558$）。

表 2　60 d 汰选 1 次时桔小实蝇成虫对高效氯氰菊酯的抗性动态

Table 2　Resistance of *B. dorsalis* adults to beta-cypermethrin while selection once in every 60 days

汰选次数 No. of selection	毒力测定时间 (d) Time of toxicity determination	毒力回归方程 LC-P line	致死中浓度 (mg/L) (95%置信区间) LC_{50} (95% CI)	相关系数 (R) Correlation coefficient	抗性倍数 (R_m) Resistance multiple
0	1	y = −7.024 + 2.540x	582.738 (450.886 ~ 754.091)	0.9894	98.022
1	61	y = −7.429 + 2.624x	677.627 (511.028 ~ 897.318)	0.9874	113.983
2	121	y = −9.019 + 3.170x	699.711 (535.129 ~ 898.526)	0.9955	117.697
3	181	y = −10.282 + 3.588x	733.848 (570.193 ~ 923.265)	0.9813	123.440
4	241	y = −5.733 + 1.972x	807.607 (582.425 ~ 1158.913)	0.9889	135.846
	271	y = −8.293 + 2.842x	827.957 (643.215 ~ 1088.272)	0.9859	139.270

2.4　90 d 汰选 1 次处理桔小实蝇对高效氯氰菊酯的抗性变化

每 90 d 使用处理一次时桔小实蝇成虫对高效氯氰菊酯抗药性呈缓慢下降趋势，但下降程度并不明显。91 d、181 d、271 d、301 d 时高效氯氰菊酯对桔小实蝇成虫 LC_{50} 分别为 575.076 mg/L、566.249 mg/L、529.207 mg/L、536.684 mg/L，桔小实蝇对高效氯氰菊酯抗性则分别为 96.733 倍、95.248 倍、89.017 倍、90.275 倍（表 3）。

表 3　90 d 汰选 1 次时桔小实蝇成虫对高效氯氰菊酯的抗性动态

Table 3　Resistance of *B. dorsalis* adults to beta-cypermethrin while selection once in every 90 days

汰选次数 No. of selection	毒力测定时间 (d) Time of toxicity determination	毒力回归方程 LC-P line	致死中浓度 (mg/L) (95%置信区间) LC_{50} (95% CI)	相关系数 (R) Correlation coefficient	抗性倍数 (R_m) Resistance multiple
0	1	y = −7.024 + 2.540x	582.738 (450.886 ~ 754.091)	0.9894	98.022
1	91	y = −5.498 + 1.992x	575.076 (404.361 ~ 797.618)	0.9965	96.733
2	181	y = −6.974 + 2.533x	566.249 (422.737 ~ 742.518)	0.9894	95.248
3	271	y = −5.866 + 2.154x	529.207 (361.472 ~ 731.361)	0.9706	89.017
	301	y = −7.603 + 2.785x	536.684 (408.573 ~ 688.631)	0.9899	90.275

2.5　120 d 汰选 1 次处理桔小实蝇对高效氯氰菊酯的抗性变化

120 d 汰选 1 次情况下桔小实蝇对高效氯氰菊酯的抗性呈下降趋势，120 d、240 d、270 d 毒力测定结果表明高效氯氰菊酯 LC_{50} 分别为 571.119 mg/L、448.647 mg/L、511.302 mg/L，桔小实蝇抗性倍数分别为 96.067 倍、75.466 倍、86.005 倍（表 4）。

表 4　120 d 汰选 1 次时桔小实蝇成虫对高效氯氰菊酯的抗性动态

Table 4　Resistance of *B. dorsalis* adults to beta-cypermethrin while selection once in every 120 days

汰选次数 No. of selection	毒力测定时间 (d) Time of toxicity determination	毒力回归方程 LC-P line	致死中浓度 (mg/L) (95%置信区间) LC_{50} (95% CI)	相关系数 (R) Correlation coefficient	抗性倍数 (R_m) Resistance multiple
0	1	y = −7.024 + 2.540x	582.738 (450.886 ~ 754.091)	0.9894	98.022
1	121	y = −5.911 + 2.144x	571.119 (414.295 ~ 779.630)	0.9905	96.067
2	241	y = −6.079 + 2.292x	448.647 (321.729 ~ 600.179)	0.9752	75.466
	271	y = −6.909 + 2.551x	511.302 (386.643 ~ 670.175)	0.9905	86.005

2.6 桔小实蝇对高效氯氰菊酯的抗性发展与汰选时间频度间关系

由上述 2.1－2.5 研究结果可知，各汰选时间间隔处理条件下桔小实蝇高抗品系成虫对高效氯氰菊酯抗性发展趋势是不同的。汰选间隔时间为 30 d、60 d、90 d、120 d、270 d 时，在初始抗性为 98.022 倍条件下桔小实蝇对高效氯氰菊酯抗性增长分别为 92.666 倍、41.248 倍、－9.005 倍、－12.017 倍、－36.105 倍，抗性增长率分别 1.945 倍、1.421 倍、0.908 倍、0.877 倍、0.632 倍（表 5）。汰选间隔时间与抗性增长率之间关系符合幂函数模型 $G_R = 11.427T^{-0.529}$（$R2 = 0.9537$）。由该方程可知，如要求 $G_R \leqslant 1$ 时，则 $T \geqslant 99$ d，表明当连续两次使用高效氯氰菊酯的间隔时间超过 99 d 时桔小实蝇高抗品系对高效氯氰菊酯的抗性水平不会升高（图 1）。

表 5 不同汰选间隔时间处理后桔小实蝇成虫对高效氯氰菊酯的抗性增长率

Table 5 Growth rate of resistance of *B. dorsalis* adults to beta-cypermethrin after selection with different time interval

汰选间隔时间（d）Selection time interval	初始抗性倍数 Basal resistance multiple	最终抗性倍数 Resistance multiple	抗性增长倍数 Growth fold of resistance	抗性增长率 Growth rate of resistance
30	98.022	190.688	92.666	1.945
60	98.022	139.270	41.248	1.421
90	98.022	89.017	－9.005	0.908
120	98.022	86.005	－12.017	0.877
270	98.022	61.917	－36.105	0.632

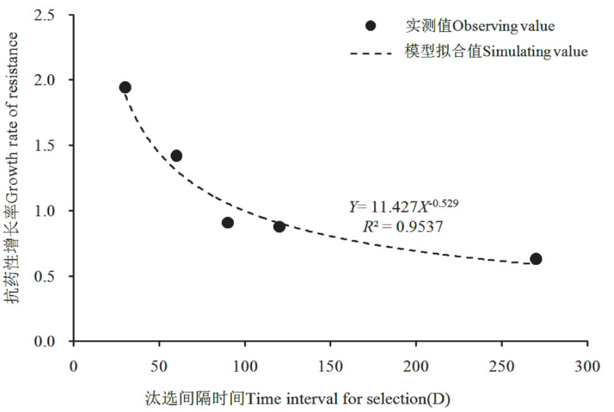

图 1 不同间隔时间汰选后桔小实蝇成虫对高效氯氰菊酯的抗性增长率变化动态

Fig. 1 Dynamic for growth rate of resistance of *B. dorsalis* adults to beta-cypermethrin after selection with different time interval

3 结论与讨论

自从有机合成广谱性化学杀虫剂产生并大范围应用以来，害虫抗药性不断产生，抗药性治理逐渐上升并成为了害虫防治实践中的一个重要问题。作为水果、蔬菜等重要害虫，多种实蝇在许多国家尤其是热带、亚热带地区发生较为普遍，且不断扩散蔓延，危害较为严重。在较高的杀虫剂选择压力下，自 1990 年代以来该类害虫对多种药剂的抗性逐渐显现，使得其抗药性发生发展、机制和治理等研究成为了近年来实蝇研究重点之一（Jin *et al.*，2011；Vontas *et al.*，2011；Hsu *et al.*，2016）。目前，关于实蝇抗药性的研究主要集中于一些重大实蝇害虫包括地中海实蝇 *Ceratitis capitata*、桔小实蝇 *B. dorsalis*、瓜实蝇 *B. cucurbitae*、橄榄实蝇 *B. oleae* 等，尤其以桔小实蝇抗药性研究最多，其内容主要涵盖了抗药性监测、增长规律、交互抗性、分子机制等几个方面（Kakani and Mathiopoulos，2008；Vontas *et al.*，2011）。但是关于实蝇类害虫抗药性治理研究还是较少涉及。

停用、轮用或者混用农药是害虫抗药性治理中常用的措施。为了明确避免抗药性上升的药剂使用间隔时间长短，应对和解决桔小实蝇抗药性问题，本文以实验室选育获得的桔小实蝇对高效氯氰菊酯的高抗品系为对象，研究了药剂不同处理频度下该实蝇抗药性的发展动态。结果显示在每 30 d 或 60 d 汰选一次的情况下桔小实蝇对高效氯氰菊酯抗性呈持续上升趋势，随着药剂汰选次数增加其抗药性增强的趋势也更加明显。在每 90 d 或更长周期汰选一次情况下桔小实蝇抗药性水平未呈上升态势，而且随着汰选间隔时间增大，

抗药性水平有进一步降低趋势。依据成虫抗药性增长率与高效氯氰菊酯汰选时间间隔关系模型估算出当连续使用高效氯氰菊酯的间隔时间不少于 99 d 时可避免桔小实蝇抗药性水平不升高。但是，值得注意的是间隔 60 d、90 d、120 d 汰选 1 次后如短时间内（如 30 d 内）使用高效氯氰菊酯再汰选时桔小实蝇下一代抗药性往往还会回升，因此建议使用高效氯氰菊酯防治桔小实蝇时前后两次施药间隔时间必须保证足够长，宜长不宜短，一般应在 90－100 d 以上，间隔时间越长桔小实蝇抗药性降低越明显，抗性治理效果就越好。

本研究还存在一些不足之处。首先，开展实验的时间不够长，无法准确掌握不同汰选频度下桔小实蝇对高效氯氰菊酯的抗性在更长时间范围内发展规律。其次，不同类型杀虫剂不同汰选频度下桔小实蝇抗药性应表现出不同的发展规律，需要深入探讨。第三，试虫为实验室培育的抗药性品系，汰选也在实验室进行，这与田间施药条件差异较大，因此本文所得结果是否与田间施药作用的实际情况相一致还有待于在生产实践中进一步试验、验证。

参考文献（References）

Armstrong JW，Follett PA. Hot-water immersion quarantine treatment against mediterranean fruit fly and oriental fruit fly（Diptera: Tephritidae）eggs and larvae in litchi and longan fruit exported from Hawaii［J］. *Journal of Economic Entomology*，2007，100（4）：1091－1097.

Chen LJ，Liu X，Wu SJ，*et al*. A comparative study of the population biology of trichlorfon-resistant strains of the oriental fruit fly，*Bactrocera dorsalis*（Diptera: Tephritdae）［J］. *Acta Entomologica Sinica*，2015，58（8）：864－871.［陈朗杰，刘昕，吴善俊，等. 桔小实蝇抗敌百虫品系的实验种群生物学比较研究［J］. 昆虫学报，2015，58（8）：864－871］

Clarke AR，Armstrong KF，Carmichael AE，*et al*. Invasive phytophagous pests arising through a recent tropical evolutionary raditation: The *Bactrocera dorsalis* complex of fruit flies［J］. *Annual Review of Entomology*，2005，50（1）：293－319.

Fang CC，Okuyama T，Wu WJ，*et al*. Fitness costs of an insecticide resistance and their population dynamical consequences in the oriental fruit fly［J］. *Journal of Economic Entomology*，2011，104（6）：2039－2045.

Hou BH，Zhang RJ. Potential distributions of the fruit fly*Bactrocera dorsalis*（Diptera: Tephritidae）in China as predicted by CLIMEX［J］. *Acta Ecologica Sinica*，2005，25（7）：1570－1574.［侯柏华，张润杰. 基于 CLIMEX 的桔小实蝇在中国适生区的预测［J］. 生态学报，2005，25（7）：1570－1574］

Hsu JC，Chien TY，Hu CC，*et al*. Discovery of genes related to insecticide resistance in *Bactrocera dorsalis* by functional genomic analysis of a de novo assembled transcriptome［J］. *PLoS ONE*，2012，7（8）：e40950.

Hsu JC，Feng HT. Insecticide susceptibility of the oriental fruit fly（*Bactrocera dorsalis*（Hendel））（Diptera: Tephritidae）in Taiwan［J］. *Chinese Journal of Entomology*，2000，20：109－118.［許如君，冯海东. 台湾东方果实蝇（*Bactrocera dorsalis*（Hendel））（双翅目：果实蝇科）对杀虫剂的感受性［J］. 中华昆虫，2000，20：109－118］

Hsu JC，Feng HT. Susceptibility of melon fly（*Bactrocera cucurbitae*）and oriental fruit fly（*B. dorsalis*）to insecticides in Taiwan［J］. *Plant Protection Bulletin*，2002，44（4）：303－314.［許如君，冯海东. 瓜实蝇及东方果实蝇对杀虫剂感受性现况［J］. 植物保护学会会刊，2002，44（4）：303－315］

Hsu JC，Feng HT. Development of resistance to spinosad in oriental fruit fly（Diptera: Tephritidae）in laboratory selection and cross－resistance［J］. *Journal of Economic Entomology*，2006，99（3）：931－936.

Hsu JC，Feng HT，Haymer DS，*et al*. Molecular and biochemical mechanisms of organophosphate resistance in laboratory－selected lines of the oriental fruit fly（*Bactrocera dorsalis*）［J］. *Pesticide Biochemistry and Physiology*，2011，100（1）：57－63.

Hsu JC，Feng HT，Wu WJ. Resistance and synergistic effects of insecticides in *Bactrocera dorsalis*（Diptera: Tephritidae）in Taiwan［J］. *Journal of Economic Entomology*，2004，97（5）：1682－1688.

Hsu JC，Feng HT，Wu WJ，*et al*. Truncated transcripts of nicotinic acetylcholine subunit gene Bdα6 are associated with spinosad resistance in *Bactrocera dorsalis*［J］. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*，2012，42（10）：806－815.

Hsu JC，Haymer DS，Wu WJ，*et al*. Mutations in the acetylcholinesterase gene of *Bactrocera dorsalis* associated with resistance to organophosphorus insecticides［J］. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*，2006，36（5）：396－402.

Hsu JC，Huang LH，Feng HT，*et al*. Do organophosphate－based traps reduce control efficiency of resistant tephritid flies?［J］. *Journal of Pest Science*，2015，88（1）：181－190.

Hsu JC，Wu WJ，Feng HT. Biochemical mechanisms of malathion resistance in oriental fruit fly（*Bactrocera dorsalis*）［J］. *Plant Protection Bulletin*，2004，46（3）：255－266.［許如君，吴文哲，冯海东. 东方果实蝇对马拉松的生化抗性机制探讨［J］. 植物保护学会会刊，2004，46（3）：255－266］

Hsu JC，Wu WJ，Haymer DS，*et al*. Alterations of the acetylcholinesterase enzyme in the oriental fruit fly *Bactrocera dorsalis* are correlated with resistance to the organophosphate insecticide fenitrothion［J］. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*，2007，38（2）：146－154.

Hsu PK，Huang LH，Geib SM，*et al*. Identification of a carboxylesterase associated with resistance to naled in *Bactrocera dorsalis*（Hendel）［J］. *Pesticide Biochemistry and Physiology*，2016，131：24－31.

Huang SQ，Han RC. Advance in the research on the quarantine pest *Bactrocera dorsalis*［J］. *Entomological Knowledge*，2005，42（5）：

479－484. [黄素青，韩日畴. 桔小实蝇的研究进展 [J]. 昆虫知识，2005，42 (5)：479－484]

Huang YY，Chen J. The propagation characteristic of oriental fruit fly，*Bactrocera dorsalis* and control technique [J]. *Entomological Journal of East China*，2006，15 (1)：63－66. [黄月英，陈军. 橘小实蝇发生特点与综合防治技术 [J]. 华东昆虫学报，2006，15 (1)：63－66]

Jin T，Liang GW，Zeng L，*et al.* Detoxification enzymes activities in different *Bactrocera dorsalis* (Hendel) populations and their relationship with the resistant levels [J]. *Journal of Environmental Entomology*，2014，36 (1)：58－67. [金涛，梁广文，曾玲，等. 不同地理区域桔小实蝇解毒酶系活性及其与抗药性水平关系 [J]. 环境昆虫学报，2014，36 (1)：58－67]

Jin T，Zeng L，Lin YY，*et al.* Characteristics of protein variants in trichlorphon－resistant *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae) larvae [J]. *Genetics and Molecular Research*，2012，11 (3)：2608－2619.

Jin T，Zeng L，Lin YY，*et al.* Insecticide resistance of the oriental fruit fly (*Bactrocera dorsalis* (Hendel)) (Diptera: Tephritidae) in mainland China [J]. *Pest Management Science*，2011，67 (3)：370－376.

Jin T，Zeng L，Lu YY，*et al.* Identification of resistance－responsive proteins in larvae of *Bactrocera dorsalis* (Hendel)，for pyrethroid toxicity by a proteomic approach [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*，2010，96 (1)：1－7.

Jin T，Zeng L，Lu YY，*et al.* Changes of the frequency of resistant individuals in populations of the oriental fruit fly，*Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae)，with resistant individual flow [J]. *Acta Entomologica Sinica*，2011，54 (3)：306－311. [金涛，曾玲，陆永跃，等. 桔小实蝇抗性个体流动对抗性个体频率的影响 [J]. 昆虫学报，2011，54 (3)：306－311]

Kakani EG，Mathiopoulos KD. Organophosphosphate resistance－related mutations in the acetylcholinesterase gene of Tephritidae [J]. *Journal of Applied Entomology*，2008，132 (9－10)：762－771.

Kuo TY，Hu CC，Chien TY，*et al.* Discovery of genes related to formothion resistance in oriental fruit fly (*Bactrocera dorsalis*) by a constrained functional genomics analysis [J]. *Insect Molecular Biology*，2015，24 (3)：338－347.

Li PZ，Lu YY，Liang GW，*et al.* Resistance risk assessment of oriental fruit fly to Spinosad [J]. *Journal of Environmental Entomology*，2012，34 (4)：447－451. [李培征，陆永跃，梁广文，等. 桔小实蝇对多杀霉素的抗药性风险评估 [J]. 环境昆虫学报，2012，34 (4)：447－451]

Li PZ，Lu YY，Liang GW，*et al.* Fitness cost of *Bactrocera dorsalis* (Hendel) strain resisitant to Spinosad [J]. *Journal of Environmental Entomology*，2014，36 (1)：68－71. [李培征，陆永跃，梁广文，等. 桔小实蝇抗多杀霉素的生物适合度代价 [J]. 环境昆虫学报，2014，36 (1)：68－71]

Li WR. The control of *Bactrocera dorsalis* (Hendel) [J]. *Chinese Journal of Entomology* (*Special Publ.*)，1988，2: 51－60. [李文蓉. 东方果实蝇之防治 [J]. 中华昆虫 (特刊)，1988，2: 51－60]

Liang Fan，Liang GQ，Zhao JP，*et al.* Key methods of occur and comprehensive control to oriental fruit fly in Guangzhou area [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*，2008，26 (3)：58－61. [梁帆，梁广勤，赵菊鹏，等. 广州地区桔小实蝇的发生与综合防治关键措施 [J]. 广东农业科学，2008，26 (3)：58－61]

Liang GQ. Features of theoriental fruit fly and its habits [J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*，1985，1: 7－15. [梁广勤. 桔小实蝇形态特征及其生活习性 [J]. 江西农业大学学报，1985，1: 7－15]

Lin JT，Zeng L，Lu YY，*et al.* Research advances in biology and control of *Bactrocera* (*Bactrocera*) *dorsalis* (Hendel) [J]. *Journal of Zhongkai Agrotechnical College*，2004，17 (1)：60－67. [林进添，曾玲，陆永跃，等. 桔小实蝇的生物学特性及防治进展 [J]. 仲恺农业技术学院学报，2004，17 (1)：60－67]

Lin YY，Jin T，Zeng L，*et al.* Cuticular penetration of β－cypermethrin in insecticide－susceptible and resistant strains of *Bactrocera dorsalis* [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*，2012，103 (3)：189－193.

Lin YY，Jin T，Zeng L，*et al.* Insecticide toxicity to oriental fruit fly *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae) is influenced by environmental factors [J]. *Journal of Economic Entomology*，2013，106 (1)：353－359.

Lin YY，Zeng L，Jin T，*et al.* Susceptible toxicity baseline data of the different types of insecticides for susceptible strains of oriental fruit fly [J]. *Journal of Environmental Entomology*，2010，32 (2)：215－219. [林玉英，曾玲，金涛，等. 不同类型杀虫剂对桔小实蝇成虫触杀作用的毒力敏感基线 [J]. 环境昆虫学报，2010，32 (2)：215－219]

Liu YZ. A review on studies of the oriental fruit fly，*Dacus dorsalis* (Hendel) in Taiwan [J]. *Entomological Bulletin of Chung Hsing University*，1981，16 (1)：9－26. [刘玉章. 台湾东方果实蝇之研究 [J]. 兴大昆虫学会报，1981，16 (1)：9－26]

Meng QQ，Lu YY，Zheng MJ，*et al.* Sterile effects of hexamethyl phosphoryl triamide mixed with protein hydrolysate on *Bactrocera dorsalis* [J]. *Journal of South China Agricultural University*，2012，33 (4)：470－474. [孟倩倩，陆永跃，郑熳筠，等. 六磷胺与水解蛋白结合使用对橘小实蝇的不育效果研究 [J]. 华南农业大学学报，2012，33 (4)：470－474]

Okuyama T，Hsu JC. Larval competition within and between insecticide resistant and susceptible individuals in the oriental fruit fly，*Bactrocera dorsalis* [J]. *Journal of Applied Entomology*，2013，137 (4)：289－295.

Pan ZP，Lu YY，Zeng L，*et al.* Development of resistance to trichlorophon，alphamethrin and abamectin in laboratory populations of the oriental fruit fly，*Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae) [J]. *Acta Entomologica Sinica*，2008，51 (6)：609－617. [潘志萍，陆永跃，曾玲，等. 桔小实蝇实验种群对敌百虫、高效氯氰菊酯和阿维菌素的抗性增长规律 [J]. 昆虫学报，2008，51 (6)：609－617]

Pan ZP，Zeng L，Lu YY. Monitoring of resistance of oriental fruit fly adults to insecticides in south China [J]. *Journal of South China Agricultural University*，2005，26 (4)：23－26. [潘志萍，曾玲，

陆永跃. 华南地区桔小实蝇对几种农药的抗药性研究 [J]. 华南农业大学学报, 2005, 26 (4): 23 - 26]

Pan ZP, Zeng L, Wen SY. Microsatellite DNA polymorphism in different pesticide - resistant strains of the oriental fruit fly *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae) [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2006, 49 (5): 874 - 877. [潘志萍, 曾玲, 温硕洋. 桔小实蝇抗性品系的微卫星 DNA 分析 [J]. 昆虫学报, 2006, 49 (5): 874 - 877]

Pan ZP, Zhai X. Effects of *Beauveria bassiana* on experimental populations of *Bactrocera dorsalis* [J]. *Plant Protection*, 2015, 41 (3): 60 - 63. [潘志萍, 翟欣. 球孢白僵菌对橘小实蝇实验种群的影响 [J]. 植物保护, 2015, 41 (3): 60 - 63]

Purcell MF, Jackson CG, Long JP, *et al*. Influence of guava ripening on parasitism of the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae), by *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) and other parasitoids [J]. *Biological Control*, 1994, 4 (4): 396 - 403.

Seewooruthun SI, Sookar P, Permalloo S, *et al*. An Attempt at the Eradication of the Oriental Fruit Fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) from Mauritius [C]. Reduit, Mauritius: Proceedings of the Second Annual Meeting of Agricultural Scientists, 1997: 181 - 187.

Stephens AEA, Kriticos DJ, Leriche A. The current and future potential geographical distribution of the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae) [J]. *Bulletin of Entomological Research*, 2007, 97 (4): 369 - 378.

Sukhirun N, Pluempanupat W, Bullangpoti V, *et al*. Bioefficacy of Alpinia galanga (Zingiberaceae) rhizome extracts, (E) -p-Acetoxycinnamyl alcohol, and (E) -p-Coumaryl alcohol ethyl ether against *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae) and the impact on detoxification enzyme activities [J]. *Journal of Economic Entomology*, 2011, 104 (5): 1534 - 1540.

Tang ZH. Insect Resistance to Pesticide and Its Management [M]. Beijing: China Agricultural Press, 1993: 11 - 18. [唐振华. 昆虫抗药性及其治理 [M]. 北京: 农业出版社, 1993: 11 - 18]

Vontas J, Hernández-Crespo P, Margaritopoulos JT, *et al*. Insecticide resistance in Tephritid flies [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2011, 100 (3): 199 - 205.

Wan XW, Liu YH, Zhang B. Invasionhistory of the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis*, in the Pacific-Asia Region: Two main invasion routes [J]. *PLoS ONE*, 2012, 7 (5): e36176.

Wan XW, Nardi F, Zhang B, *et al*. The oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis*, in China: Origin and gradual inland range expansion associated with population growth [J]. *PLoS ONE*, 2011, 6 (10): e25238.

Wang LL, Feng ZJ, Li T, *et al*. Inheritance, realized heritability, and biochemical mechanisms of malathion resistance in *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae) [J]. *Journal of Economic Entomology*, 2016, 109 (1): 299 - 306.

Zhang YP, Lu YY, Zeng L, *et al*. Population life parameters and relative fitness of alpharmethrin-resistant *Bactrocera dorsalis* strain [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2009, 20 (2): 381 - 386. [章玉苹, 曾玲, 陆永跃, 等. 桔小实蝇抗高效氯氰菊酯品系种群生命参数与相对适合度研究 [J]. 应用生态学报, 2009, 20 (2): 381 - 386]

Zhang YP, Lu YY, Zeng L, *et al*. Life-history traits and population relative fitness of trichlorphon-resistant and susceptible *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae) [J]. *Psyche*, 2010, 2010 (2010): 895935.

Zhang YP, Zeng L, Lu YY, *et al*. Monitoring of insecticide resistance of *Bactrocera dorsalis* adults in South China [J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2007, 28 (3): 20 - 23. [章玉苹, 曾玲, 陆永跃, 等. 华南地区桔小实蝇抗药性动态监测 [J]. 华南农业大学学报, 2007, 28 (3): 20 - 23]

Zhang YP, Zeng L, Lu YY, *et al*. Monitoring of insecticides resistance of oriental fruit fly field populations in South China [J]. *Journal of Huazhong Agriculture University (Natural Science Edition)*, 2008, 27 (4): 456 - 459. [章玉苹, 曾玲, 陆永跃, 等. 华南地区桔小实蝇田间种群抗药性的监测 [J]. 华中农业大学学报 (自然科学版), 2008, 27 (4): 456 - 459]

Zhang YP, Zeng L, Lu YY, *et al*. Resistance stability and re-growth in adults of the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae) to trichlorphon [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2008, 51 (10): 1044 - 1049. [章玉苹, 曾玲, 陆永跃, 等. 桔小实蝇对敌百虫抗性稳定性及再增长趋势 [J]. 昆虫学报, 2008, 51 (10): 1044 - 1049]