·论 著·

除虫脲对登革热媒介伊蚊拟除虫菊酯类抗性种群的作用效果研究

开文龙[1],师灿南[1],赵春春[1],刘起勇[1],宋秀平[1],任东升[1],李洪斌[2],范建华[2],周红宁[3],孟凤霞[1]
1 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所媒介生物控制室,传染病预防控制国家重点实验室,WHO媒介生物监测与管理合作中心,北京 102206; 2 西双版纳傣族自治州疾病预防控制中心,云南 景洪 666100; 3 云南省寄生虫病防治研究所,云南 普洱 665000

摘要: 目的 了解除虫脲对登革热媒介埃及伊蚊和白纹伊蚊的作用效果,为蚊虫抗药性治理和蚊媒控制提供依据。**方法** 用WHO推荐的昆虫生长调节剂的抗药性测定方法,以采自景洪市登革热疫区的埃及伊蚊和白纹伊蚊及实验室敏感品系为研究对象,研究除虫脲对这2种伊蚊的作用效果及其特点;用SPSS 24.0软件进行概率回归分析,得到除虫脲对伊蚊敏感品系和抗性种群的半数抑制剂量(IE_{50}),计算抗性倍数;通过观察不同浓度除虫脲作用下伊蚊的虫态构成及死亡情况,分析除虫脲对伊蚊的作用特点。**结果** 景洪市埃及伊蚊和白纹伊蚊拟除虫菊酯类抗性种群对除虫脲的IE_{50}及95%*CI*分别为0.002 33(0.001 98～0.003 12)和0.002 53(0.002 16～0.002 89) μg/ml,其抗性倍数分别为1.77和1.71倍,属于敏感水平,除虫脲与拟除虫菊酯类药物无交互抗性;使用除虫脲后,埃及伊蚊和白纹伊蚊的死亡高峰均在第4～6天,表明与常用的化学杀虫剂比较,除虫脲致死作用比较缓慢;不同浓度除虫脲对蚊虫作用效果不同,低浓度主要在成蚊阶段死亡,高浓度均出现蛹和/或幼虫死亡。**结论** 景洪市埃及伊蚊和白纹伊蚊抗性种群对除虫脲均敏感,推荐使用剂量为0.006 μg/ml,但其致死作用比较缓慢,适用于蚊虫的抗性治理和可持续控制。

关键词: 登革热; 埃及伊蚊; 白纹伊蚊; 抗药性; 除虫脲
中图分类号: R384.1; S481$^+$.4; S481$^+$.9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-8280(2018)02-0126-04
DOI:10.11853/j.issn.1003.8280.2018.02.003

Study on the effect of diflubenzuron on pyrethroid-resistant dengue vector *Aedes* mosquitoes

KAI Wen-long[1], SHI Can-nan[1], ZHAO Chun-chun[1], LIU Qi-yong[1], SONG Xiu-ping[1], REN Dong-sheng[1], LI Hong-bin[2], FAN Jian-hua[2], ZHOU Hong-ning[3], MENG Feng-xia[1]
1 *State Key Laboratory of Infectious Disease Prevention and Control, National Institute for Communicable Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, WHO Collaborating Centre for Vector Surveillance and Management, Beijing* 102206, China; 2 *Xishuangbanna Center for Disease Control and Prevention*; 3 *Yunnan Institute of Parasitic Disease*
Corresponding author: MENG Feng-xia, Email: mengfengxia@icdc.cn

Supported by the National Science and Technology Major Project (No. 2017ZX10303404002005), Zika Special Project of the MOST Reform and Development Project (2016-06 — 2017-05) and National Major Research and Development Program (No. 2016YFC1200802)

Abstract: Objective To determine the effect of diflubenzuron on dengue vector *Aedes* mosquitoes and provide evidence for mosquito resistance management and vector control. **Methods** WHO recommended method for insect growth regulators was utilized; the resistant *Aedes* strains were collected from Jinghong city the dengue fever epidemic area, the data were analyzed with SPSS 24.0 to create a log-probit model to determine the IE_{50} of the susceptible strains and resistant strains, calculate the resistance ratio, observe the the stage- and concentration-dependent mortality, and analyze the characteristics of diflubenzuron against *Aedes* mosquitoes. **Results** The IE_{50s} of the resistant strains of *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* were 0.002 53(95%*CI*: 0.002 16-0.002 89) μg/ml and 0.002 33(95%*CI*: 0.001 98-0.003 12) μg/ml, the resistant ratios were 1.77- and 1.71-fold, indicating that no cross resistance between diflubenzuron and pyrethroid. The mortality peak of *Ae. albopictus* and *Ae. aegypti* was 4-6 d post-exposure, indicating that the effect of diflubenzuron was slow as compared with commonly used conventional insecticides. Under the different concentrations, the effect was different. The

基金项目: 国家传染病科技重大专项(2017ZX10303404002005); 国家科技部改革发展专项研发项目(寨卡病毒致病机制及其防控策略研究, 2016-06—2017-05); 国家重点研发计划(2016YFC1200802)
作者简介: 开文龙,男,在读硕士,从事蚊虫防治和抗性研究,Email:kwl1014@163.com
通信作者: 孟凤霞,Email:mengfengxia@icdc.cn
网络出版时间: 2018-03-02 11:39 **网络出版地址:** http://epub.cnki.net/kns/oldnavi/n_CNKIPub.aspx?naviid=59&BaseID=ZMSK&NaviLink=

low concentration mainly resulted mortality at adult stage, whilethe high concentration mostly impacted on pupal and/or larval stages. **Conclusion** The resistant strains of *Ae. albopictus* and *Ae. aegypti* were susceptible to diflubenzuron. The recommended dose was 0.006 μg/ml, but the lethal effect of diflubenzuron was slow. It can be used as a selective insecticide for resistance management and vector control.

Key words: Dengue fever; *Aedes aegypti*; *Aedes albopictus*; Drug insecticide; Diflubenzuron

白纹伊蚊(*Aedes albopictus*)和埃及伊蚊(*Ae. aegypti*)是重要的医学媒介昆虫,可传播登革热、黄热病和寨卡病毒病等多种新发及再发传染病[1-2]。在登革热疫情暴发时,使用速杀性化学杀虫剂(如有机磷、氨基甲酸酯和拟除虫菊酯类等)进行超低容量喷雾和滞留喷洒迅速杀灭成蚊是控制疫情的重要手段[3]。但长期大量使用该类杀虫剂可导致抗药性和环境污染等问题产生。综合治理可有效地减少化学杀虫剂的使用,孳生地蚊虫控制是重要的综合治理手段之一,能够可持续地降低蚊密度。在不能通过翻盆倒罐或填埋方式清除的积水中可以投放灭幼杀虫剂,可安全高效地防控蚊虫孳生。

除虫脲作为几丁质合成抑制剂,使用后可使昆虫身体和器官不能成型、体液外泄而死亡[4-5]。多年来,多数除虫脲已在国内外农作物、蔬菜和果树害虫控制中被广泛应用。而且在美国已经用于蚊幼虫和摇蚊幼虫的控制。本研究在实验室条件下,以登革热媒介白纹伊蚊和埃及伊蚊敏感品系和抗性种群为研究对象,测定其对昆虫生长调节剂除虫脲的敏感性及作用特点,为除虫脲在登革热媒介伊蚊的抗性综合治理方面提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 试虫来源

1.1.1 白纹伊蚊和埃及伊蚊抗性种群 均为2015年10—11月采自景洪市登革热疫区,且对常用拟除虫菊酯类杀虫剂具有40～1 500倍的抗性[6]。

1.1.2 敏感品系 白纹伊蚊敏感品系JS-SUS最初于1989年采集自四川省成都市郊区;埃及伊蚊为ICDC-SUS敏感品系。所用敏感品系均为本实验室在不接触任何杀虫剂的情况下长期饲养,并对常用化学杀虫剂均敏感。

1.2 杀虫剂 98.7%除虫脲原药由拜耳作物科学(中国)有限公司惠赠。

1.3 测定方法 采用WHO推荐的昆虫生长调节剂的抗药性测定方法[7]。按照师灿南等[3]测定吡丙醚对登革热媒介伊蚊敏感性实验的操作步骤,在相同控制条件下、用相同的死亡或抑制的判断标准,测定除虫脲对白纹伊蚊及埃及伊蚊的作用效果。

1.4 抗性判定标准 抗性水平用相对抗性倍数(RR)表示,RR=抗性种群半数抑制剂量(IE_{50})/敏感品系IE_{50},RR<3为敏感;3≤RR<10为低抗;10≤RR<40为中抗;RR≥40为高抗[8]。

1.5 统计学分析 利用SPSS 24.0软件进行概率回归分析,计算除虫脲对测试蚊虫的IE_{50}、IE_{90}、IE_{99}及其95%*CI*等。

2 结 果

2.1 埃及伊蚊抗性种群对除虫脲的敏感性 由表1可知,埃及伊蚊抗性种群和敏感品系IE_{50}及其95%*CI*分别为0.002 33(0.001 98～0.003 12)和0.001 32(0.001 05～0.001 49)μg/ml,抗性倍数为1.77倍;抗性种群及敏感品系的*b*值分别为5.826和4.809。表1显示,具有对拟除虫菊酯类杀虫剂高抗性的埃及伊蚊,对几丁质合成抑制剂除虫脲仍然敏感(RR为1.77倍),景洪种群埃及伊蚊对保幼激素类似物吡丙醚也非常敏感[3]。

2.2 白纹伊蚊抗性种群对除虫脲敏感性 由表1可见,白纹伊蚊抗性种群和敏感品系IE_{50}及其95%*CI*分别为0.002 53(0.002 16～0.002 89)和0.001 48(0.001 36～0.001 61)μg/ml,抗性倍数为1.71倍;抗性种群及敏感品系的*b*值分别为7.457和7.374。表1显示,具有对拟除虫菊酯类杀虫剂高抗性的白纹伊蚊,对几丁质合成抑制剂除虫脲仍然敏感(RR为1.71倍),但景洪种群白纹伊蚊对保幼激素类似物吡丙醚产生中抗(RR为5.5倍)[3]。

表1 拟除虫菊酯类抗性登革热媒介伊蚊幼虫对除虫脲的敏感性

Table 1 The susceptibility of diflubenzuron on dengue vector *Aedes* larvae resistant to pyrethroid

试虫	种群	试虫数(只)	斜率*b*($s_{\bar{x}}$)	IE_{50}及其95%*CI*(μg/ml)	IE_{90}及其95%*CI*(μg/ml)	IE_{99}及其95%*CI*(μg/ml)	χ^2值(*df*)	抗性倍数
埃及伊蚊	抗性	480	5.826(0.727)	0.002 33(0.001 98～0.003 12)	0.003 87(0.002 97～0.011 22)	0.005 85(0.003 88～0.034 00)	7.594(3)	1.77
	敏感	510	4.809(0.797)	0.001 32(0.001 05～0.001 49)	0.002 43(0.002 23～0.003 77)	0.004 01(0.003 33～0.005 68)	2.889(5)	1.00
白纹伊蚊	抗性	420	7.457(0.765)	0.002 53(0.002 16～0.002 89)	0.003 76(0.003 21～0.005 47)	0.005 19(0.004 07～0.010 03)	6.580(3)	1.71
	敏感	400	7.374(0.674)	0.001 48(0.001 36～0.001 61)	0.002 22(0.001 98～0.002 70)	0.003 07(0.002 56～0.004 72)	9.453(5)	1.00

2.3 埃及伊蚊在不同浓度除虫脲作用下的死亡时间分布 埃及伊蚊抗性种群和敏感品系分别在第3～5天和第5～6天形成死亡高峰，对照组和各浓度处理组在第7天均无试虫存活（图1A、B）。

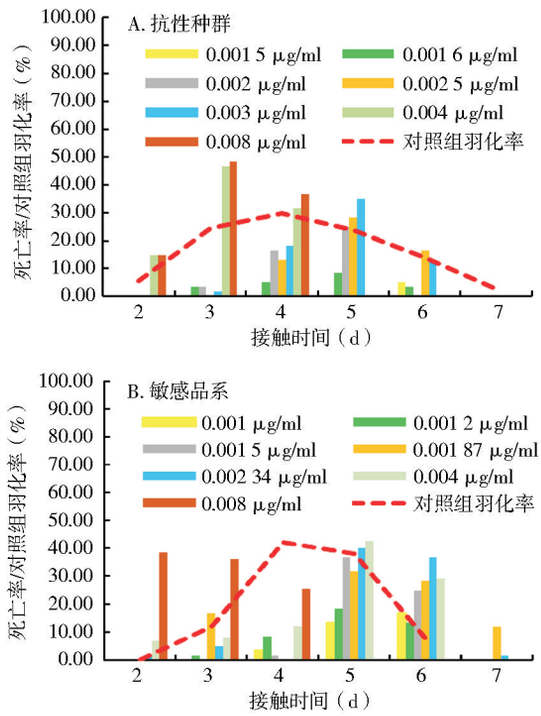


图1 埃及伊蚊抗性种群（A）和敏感品系（B）接触不同浓度除虫脲的死亡时间分布

Figure 1 The death time distribution of the resistant (A) and sensitive (B) strains of *Aedes aegypti* in different concentrations of diflubenzuron

在0.001～0.001 5 μg/ml低浓度作用下，埃及伊蚊敏感品系在成虫阶段出现死亡，当浓度上升至0.001 87 μg/ml时，蛹开始出现死亡，占该浓度死亡总数的5.0%；当浓度达到0.002 34 μg/ml时，蚊幼虫出现死亡。除虫脲浓度为0.001 5 μg/ml时，埃及伊蚊抗性种群出现蛹的死亡，当浓度达0.004 μg/ml时，蚊幼虫出现大量死亡，占总死亡数的17.9%，2个品系的蚊幼虫死亡数所占比例均具有随浓度升高而增加的趋势，见表2。

2.4 白纹伊蚊在不同浓度除虫脲作用下的死亡时间分布 白纹伊蚊抗性种群在第3天出现少量死亡，第4～5天形成死亡高峰，在第7天全部羽化或死亡（图2A）；敏感品系在第2天开始出现死亡，接触第5～6天达到死亡高峰，一直持续到第8天（图2B）。

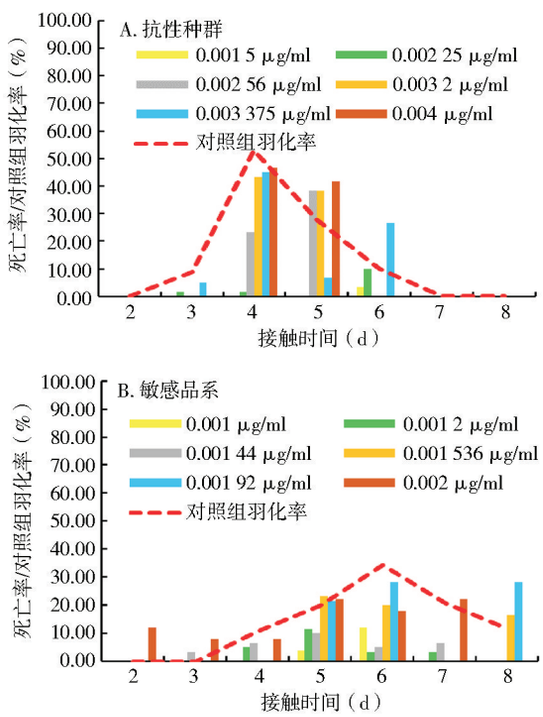


图2 白纹伊蚊抗性种群（A）和敏感品系（B）接触不同浓度除虫脲的死亡时间分布

Figure 2 The death time distribution of the resistant (A) and sensitive (B) strains of *Aedes albopictus* in different concentrations of diflubenzuron

表2 埃及伊蚊在不同浓度除虫脲作用下的死亡高峰及死亡状态

Table 2 The effect of different concentrations diflubenzuron to *Aedes aegypti*

试虫	浓度（μg/ml）	试虫数（只）	起效时间[a]（d）	结局时间[b]（d）	死亡高峰时间（d）	死亡率（%）	死亡构成比（%）		
							幼虫	蛹[c]	成虫
抗性种群	0.001 5	60	6	6	6	5.0	0.0	33.3	66.7
	0.001 6	60	3	6	4～5	20.0	8.3	16.7	75.0
	0.002	60	3	5	4～5	45.0	0.0	0.0	100.0
	0.002 5	60	4	6	5～6	58.3	0.0	8.6	91.4
	0.003	60	3	6	4～5	68.3	0.0	12.2	87.8
	0.004	60	2	4	3～4	93.3	17.9	32.1	50.0
	0.008	60	2	4	3～4	100.0	21.7	21.7	56.6
敏感品系	0.001	60	4	6	5～6	33.3	0.0	0.0	100.0
	0.001 2	60	3	6	5～6	41.7	0.0	0.0	100.0
	0.001 5	60	4	6	5～6	63.3	0.0	0.0	100.0
	0.001 87	60	3	7	5～6	73.3	0.0	5.0	95.0
	0.002 34	60	2	7	5～6	85.0	2.0	8.0	90.0
	0.004	75	2	6	5～6	98.7	1.4	43.8	54.8
	0.008	75	2	4	2～3	100.0	64.0	29.3	6.7

注：a. 起效时间为试虫出现死亡的时间；b. 结局时间为试虫全部羽化或全部死亡的时间；c. 一半成蚊虫体未离开蛹壳也称之为蛹

在0.001～0.001 92 μg/ml浓度下，白纹伊蚊敏感品系出现蛹及成虫的死亡，当浓度达到0.002 μg/ml时，蚊幼虫开始出现死亡，占死亡总数的24.4%；在浓度为0.001 5～0.003 375 μg/ml时，白纹伊蚊抗性种群出现蛹及成虫的死亡，当浓度达到0.004 μg/ml时，蚊幼虫出现死亡，见表3。

表3 白纹伊蚊在不同浓度除虫脲作用下的死亡高峰及死亡状态

Table 3 The effect of different concentrations diflubenzuron to *Aedes albopictus*

试虫	浓度（μg/ml）	试虫数（只）	起效时间[a]（d）	结局时间[b]（d）	死亡高峰时间（d）	死亡率（%）	死亡构成比（%）		
							幼虫	蛹[c]	成虫
抗性种群	0.001 5	60	6	6	6	3.3	0.0	0.0	100.0
	0.002 25	60	3	6	6	28.3	5.9	11.8	82.3
	0.002 56	60	4	5	4～5	61.7	0.0	0.0	100.0
	0.003 2	60	4	5	4～5	81.7	0.0	0.0	100.0
	0.003 375	60	3	6	4	83.3	0.0	14.0	86.0
	0.004	60	4	5	4～5	90.0	11.3	11.3	77.4
敏感品系	0.001	50	5	6	5～6	16.0	0.0	12.5	87.5
	0.001 2	60	4	7	4～5	23.3	0.0	7.1	92.9
	0.001 44	60	3	7	4～5	31.7	0.0	31.6	68.4
	0.001 536	60	5	8	5～6	60.0	0.0	0.0	100.0
	0.001 92	60	5	8	5～6	78.3	0.0	2.1	97.9
	0.002	50	2	7	5～7	90.0	24.4	37.8	37.8

注：a. 起效时间为试虫出现死亡的时间；b. 结局时间为试虫全部羽化或全部死亡的时间；c. 一半成蚊虫体未离开蛹壳也称之为蛹

2.5 除虫脲对景洪埃及伊蚊和白纹伊蚊作用时间比较 图1、2和表2、3显示，埃及伊蚊及白纹伊蚊景洪种群的结局时间和死亡高峰时间较敏感品系早，在浓度相同或相近时，埃及伊蚊抗性种群的起效时间为2～3 d，结局时间为5～6 d，死亡高峰时间为4～5 d；埃及伊蚊敏感品系的起效时间为2～3 d，结局时间为6～7 d，死亡高峰时间为5～6 d。同样，白纹伊蚊抗性种群的起效时间为3～4 d，结局时间为5～6 d，死亡高峰时间为4～5 d；白纹伊蚊敏感品系的起效时间为3～5 d，结局时间为7～8 d，死亡高峰时间为5～6 d。整体而言，敏感品系的发育时间较抗性种群晚，因此，除虫脲对敏感品系的作用时间较抗性种群也要缓慢一些。

3 讨 论

本研究所用的抗性种群于2015年采自景洪市登革热疫区，其化学杀虫剂抗药性背景清晰。景洪市白纹伊蚊幼虫和埃及伊蚊幼虫对拟除虫菊酯类的抗性均高达几百倍甚至上千倍，如景洪市白纹伊蚊幼虫对氯菊酯抗性倍数为1 559.7倍，景洪市埃及伊蚊幼虫对氯菊酯抗性倍数为865.5倍[6]。本研究显示，2个抗性种群与敏感品系对除虫脲的敏感性接近，表明除虫脲与拟除虫菊酯类杀虫剂无交互抗性，与Belinato和Valle[9]的研究结果一致。

本研究结果显示，除虫脲作用比较缓慢，作用时间较长，一般持续时间为1周左右；而常用的化学杀虫剂使用24 h即能看到作用效果，因而在现场使用除虫脲时并不能达到立竿见影的效果，而是一个持续缓慢的过程。

通过表1推荐使用埃及伊蚊抗性种群除虫脲IE_{99}剂量（约0.006 μg/ml）作为控制剂量处理伊蚊孳生水体，抗性种群的抑制效果＞99%。本研究埃及伊蚊初步的诊断剂量为0.008 02 μg/ml，白纹伊蚊的诊断剂量为0.006 14 μg/ml。尽管有关蚊幼虫对除虫脲抗药性发生研究仅见于20世纪70—80年代，是一种低风险性杀虫剂[10]，但蚊虫媒介对所有杀虫剂均存在抗药性产生的风险，所以应制定预防抗药性产生的相关策略，如交替、复配使用杀虫剂，并随时监测抗药性动态，从而有效地延长其使用寿命，实现蚊虫的可持续控制。

参考文献

[1] 张硕，李德新. 寨卡病毒和寨卡病毒病[J]. 病毒学报，2016，32(1)：121-127.

[2] 陆宝麟. 中国动物志. 昆虫纲. 第8卷. 双翅目：蚊科(上)[M]. 北京：科学出版社，1997：222-224.

[3] 师灿南，开文龙，刘起勇，等. 景洪市登革热媒介伊蚊对吡丙醚的敏感性及其作用特点[J]. 中国媒介生物学及控制杂志，2017，28(2)：108-112.

[4] 苏天运. 生物理念杀蚊幼剂的历史与现状及未来[J]. 中华卫生杀虫药械，2014，20(1)：1-5，9.

[5] 苏天运. 蚊虫对微生物和昆虫生长调节剂杀幼剂的抗药性及其管理[J]. 中国媒介生物学及控制杂志，2014，25(3)：193-199.

[6] 师灿南. 景洪市登革热媒介伊蚊对常用杀虫剂的抗药性及机制的初步研究[D]. 北京：中国疾病预防控制中心，2017.

[7] World Health Organization. Guideline for laboratory and field testing of mosquito larvicides[R]. Geneva：WHO，2005：13.

[8] Zhang K，Zhang W，Zhang S，et al. Susceptibility of *Sogatella furcifera* and *Laodelphax striatellus* (Hemiptera：Delphacidae) to six insecticides in China[J]. J Econ Entomol，2014，107(5)：1916-1922.

[9] Belinato TA，Valle D. The impact of selection with diflubenzuron，a chitin synthesis inhibitor，on the fitness of two Brazilian *Aedes aegypti* field populations[J]. PLoS One，2015，10(6)：e0130719.

[10] Walker AL，Wood RJ. Laboratory selected resistance to diflubenzuronin larvae of *Aedes aegypti*[J]. Pest Manag Sci，1986，17(5)：495-502.

收稿日期：2018-01-16