附件6

草地贪夜蛾对杀虫剂的抗性风险评估

（征求意见稿）

**1 范围**

本标准规定了农药登记用草地贪夜蛾对杀虫剂抗性风险评估的原则和要求。

本标准适用于杀虫剂登记前或登记后在人为可控条件下，草地贪夜蛾对相关药剂的抗药性风险评估。

**2 规范性引用文件**

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

NY/T 1859.1-2010 农药抗药性风险评价总则

NY/T 1667.1~1667.8 农药登记管理术语

NY/T 1154.1-2006 农药室内生物测定实验准则第1部分：触杀活性试验点滴法

NY/T 1154.14-2008农药室内生物测定实验准则第14部分：活性试验浸叶法

**3 术语和定义**

NY/T 1667.1~1667.8界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

**3.1抗药性Insecticide Resistance**

昆虫具有耐受杀死正常种群大部分个体的药量的能力，并在其群体内发展起来的现象。

**3.2抗性选育Resistance Selection**

用杀虫药剂继代处理昆虫种群，使昆虫种群对处理药剂忍受能力逐渐增加的过程，每次处理死亡率一般控制在40%~80%。

**3.3亚致死剂量 Sublethal Dose**

杀虫剂亚致死剂量到目前为止没有一个严格和统一的定义，一般认为昆虫个体受到一定剂量杀虫剂的毒害但未引起死亡，仍具有一定行为能力，此剂量就是杀虫剂的亚致死剂量，基本分布在LC1-LC50之间)。对个体，亚致死剂量是一个剂量区间，它不引起昆虫死亡，但对昆虫正常的行为或生理活动带来影响；对种群，这个区间的剂量能引起种群的增长率的升高或降低。

**3.4现实遗传力 Realized Heritability**

指群体抗药性的表型方差(或表型变异量)中遗传成分所占的比重。

**3.5适合度 Fitness**

昆虫在一定环境条件下存活和繁殖的能力。

**3.6敏感性基线 Sensitivity Base-line**

通过生物测定方法得到的昆虫敏感品系（或种群或生物型）对药剂的剂量反应曲线。

**3.7田间抗药性Field Resistance**

因昆虫对药剂产生抗药性，农药在推荐剂量下使用的田间防治效果显著下降的现象。

**3.8交互抗性Cross Resistance to Insecticides**

指一个昆虫品系或种群由于相同的机制对一类杀虫剂产生抗性的同时对另一类从未使用过的杀虫剂也产生抗性的现象。

**3.9负交互抗性Negative Cross Resistance to Insecticides**

指昆虫的一个品系或种群对一类杀虫剂产生抗性后，对另外一种从未使用过的杀虫剂的敏感度反而上升的现象。

**3.10多抗性Multiple Resistance to Insecticides**

指一个昆虫品系或种群对多种不同的化合物都产生了抗性。

**3.11抗性倍数 Resistance Ratio**

抗药性的评价指标，抗性倍数=抗性昆虫种群LC50（或LD50）/敏感昆虫种群LC50（或LD50）。

**3.12抗药性风险Resistance Risk**

某种杀虫剂应用后，昆虫群体对其产生抗药性而造成不良后果的可能性。

**4 抗药性风险评估**

**4.1 抗药性风险的影响因子**

**4.1.1 药剂**

防治草地贪夜蛾的药剂按作用机制分类主要有鱼尼丁受体调节剂、门控氯离子通道激动剂、烟碱型乙酰胆碱受体别构调节剂、门控钠离子通道阻断剂、以及几丁质合成抑制剂等（参见附录D），除几丁质合成抑制剂外，理论上属于易产生抗性风险的农药。

**4.1.2 靶标生物**

草地贪夜蛾，繁殖能力强，入侵我国的草地贪夜蛾主要危害玉米，可远距离迁飞扩散。由于危害寄主单一，每一代都有可能受到杀虫剂的选择压力，如果长时间连续单一药剂防治极易产生抗药性。属于中等到高等抗性风险的害虫。

**4.1.3 农事操作风险**

大面积种植草地贪夜蛾的寄主作物玉米、单作或连作的农事操作抗性风险高。凡是有利于增加药剂选择压力和加重草地贪夜蛾发生的施药技术及栽培耕作措施均会增加抗性风险。

**4.2 抗性风险评估内容**

**4.2.1 敏感基线的测定**

4.2.1.1 对于胃毒兼触杀活性的药剂，采用浸叶法（NY/T 1154.14-2008）或饲料药膜法或点滴法（NY/T 1154.1-2006），对室内饲养的草地贪夜蛾敏感品系3龄初孵第一天的幼虫（虫重量约0.005g）进行毒力测定；对于只有胃毒活性的药剂，采用浸叶法（NY/T 1154.14-2007）或饲料药膜法，对室内饲养的草地贪夜蛾敏感品系2龄初孵第一天的幼虫（虫重量约0.002g）进行毒力测定。

4.2.1.2 靶标试虫死亡判别标准：用毛笔触碰幼虫的尾部，幼虫无反应视为死亡；幼虫明显畸形、发黑或幼虫体型明显缩小（小于正常体型的一半）视为死亡；幼虫停止进取食为死亡。

4.2.1.3 应用POLOPlus等软件对数据进行机值分析，获得b值及其标准误差、LC50值及其置信限等数据，确定敏感基线。

**4.2.2靶标生物产生抗药性的潜能**

4.2.2.1实验室抗性筛选

用于建立敏感基线相同的方法在室内对草地贪夜蛾种群至少选育10代，计算现实遗传力以及不同选择强度下抗性产生10倍所需代数，如果10代筛选抗性已产生5倍以上，测定种群适合度是否变化。

4.2.2.2田间抗性种群筛选

对于不能进行实验室抗性筛选的情况，可从草地贪夜蛾发生较重、用药防治水平较高地区，采集5-10个地点的种群，采用4.2.1敏感基线的测定方法，分别进行毒力测定。以建立的敏感基线为对照，分析田间种群的抗性水平。

**4.2.3 药剂特性、使用情况及靶标生物交互抗性**

4.2.3.1 实验室筛选交互抗性

调查药剂（或同类药剂）在当地的使用历史、使用频率，同类药剂是否有抗性现象，当地是否采取了抗药性治理措施；依据其他相关药剂的抗性发生现状及毒力测定结果，分析是否与该药剂具有交互抗性。

4.2.3.2 田间种群交互抗性

选择实际生产中防治草地贪夜蛾的常用药剂，按作用机理，每类药剂选择一个品种，对经4.2.2.2筛选的田间抗性种群分别进行毒力测定。结合相关区域用药历史，分析说明交互抗性情况。

**4.2.4田间抗药性产生的风险**

如果抗性草地贪夜蛾害虫种群（或筛选后种群）适合度不明显低于敏感种群（或筛选前种群），同类药剂已经登记使用，该药剂田间使用具有抗性风险。

**4.3抗性风险级别分析**

**4.3.1 高等抗性风险**

如果有同类药剂使用的历史并产生了抗药性，筛选后种群适合度至少不低于筛选前、亚致死剂量处理后适合度没有显著降低，该药剂为高等风险药剂。

**4.3.2 中等抗性风险**

如果有同类药剂使用历史，筛选后种群适合度至少不低于筛选前、亚致死剂量处理后适合度没有显著降低，该药剂为中等风险药剂。

**4.3.3 低等抗性风险**

如果没有同类药剂使用历史，筛选后种群适合度明显低于筛选前、亚致死剂量处理后适合度有显著降低，该药剂为低等风险药剂。

**5 抗性风险管理**

**5.1 一般原则**

防治草地贪夜蛾，对于高等抗性风险的药剂，农药生产企业需要为登记的产品提供抗性风险评估资料及管理措施，并在产品标签和使用说明书上注明如何规避抗性风险。对于中等抗性风险的药剂，鼓励农药生产企业为登记的产品提供抗性风险评估资料及管理措施，并在产品标签和使用说明书上注明如何规避抗性风险。

对高等抗性风险的药剂，抗性风险管理需要农药生产（经营）企业、登记管理部门、植保推广部门和使用者等共同参与。

**5.2 抗性风险管理措施**

**5.2.1 有害生物综合治理**

采用农业防治、生物防治、物理防治及其它有利于减轻蚜虫发生和危害的非化学防治措施，必须时采用化学防治措施进行综合治理。

**5.2.2 限制性使用技术**

限定农药品种的年使用或连续使用次数。对于高抗性风险药剂暂停使用或在不与中等抗性药剂交叉使用的情况下，年使用次数不多于2次；对于中等抗性风险药剂年使用次数不多于3次；对于低等抗性风险药剂年使用次数不多于5次。

**5.2.3 分区施药**

依据药剂的作用分子靶标结合草地贪夜蛾的迁飞扩散特性制定合理的分区施药模式，在常年发生区及不同的迁飞距离区域使用作用机制不同的药剂进行防治，并实施轮换使用。

**5.2.4 混合用药**

利用不同类药剂抗性机制不同，可以进行混合使用，延缓抗药性发展。混合用药时，药剂组分的选择、配比以及混合的程序等应符合农药相容性和延缓抗药性的要求。

**5.2.5 轮换用药**

轮换使用抗性机制类型不同的药剂，以延缓蚜虫对新烟碱类药剂抗性的发展。

**5.2.6 负交互抗性药剂的使用**

使用通过试验证明的与某一种类型药剂具有负交互抗性的药剂，以延缓草地贪夜蛾对该类型药剂抗性的发展。

**5.2.7 监测抗性发生和发展**

对于高、中等抗性风险的杀虫剂应实施抗药性监测。

**5.2.8 产品标签标注**

在产品标签上标注抗性风险级别，并标明相应抗性风险管理的措施。

附录A

（规范性附录）

现实遗传力的计算

现实遗传力*h2*按以下公式计算：

*R*：选择效应，，*n*为选择代数；

*S*：选择差异，*S* = *iδp*，*δp* = [1/2（初斜率＋终斜率）]-1，*i*≈1.583-0.0193336*p*+0.0000428*p*2+3.65194/*p*，*i*代表选择强度，*δp*代表表现型的平均离差，*p*是每代选择平均存活率。

通过对上述公式的进一步简化得到以下公式：

式中：

b1：种群初始毒力回归方程斜率；

b2：种群筛选后毒力回归方程斜率；

RR，种群筛选后抗性倍数，RR=种群筛选后LD50（LC50）/种群初始LD50（LC50）；

N：筛选代数；

I：选择强度，I≈1.583-0.0193336*p*+0.0000428*p*2+3.65194/*p*，(*p*，平均选择存活率，10<*p*<80，*p*=100-*q*，*q*为平均校正死亡率)。

根据现实遗传力*h*2，预测筛选后抗性上升*x*倍所需代数，以及不同选择压力（50%-99%）下，抗性上升10倍所需的代数。

附录B

（规范性附录）

适合度(Fitness)的计算

适合度按以下公式计算：

式中：

W：适合度；

Ni：本代种群的个体总数量；

Ni-1：上一代种群的个体总数量。

附录C

（规范性附录）

相对适合度（Relative Fitness）的计算

抗性种群是否存在适合度代价主要与敏感种群比较相同的种群参数而得出结论。

相对适合度按以下公式计算：

试中：

W相对：相对适合度；

W抗性：抗性种群的种群参数rm或R0或*λ*；

W敏感：敏感种群的种群参数rm或R0或λ。

附录D

**（资料性附录）**

根据农业部草地贪夜蛾应急防治用药推荐名单药剂，推荐相应的生物测定方法

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **药剂** | **靶标部位** | **作用方式** | **推荐测定方法** |
| 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐 | 门控氯离子通道 | 胃毒兼触杀 | 点滴法、浸叶法、饲料药膜法 |
| 氯虫苯甲酰胺 | 鱼尼丁受体 | 胃毒兼触杀 | 点滴法、浸叶法、饲料药膜法 |
| 氟苯虫酰胺 | 鱼尼丁受体 | 胃毒兼触杀 | 点滴法、浸叶法、饲料药膜法 |
| 四氯虫酰胺 | 鱼尼丁受体 | 胃毒兼触杀 | 点滴法、浸叶法、饲料药膜法 |
| 茚虫威 | 钠离子通道 | 胃毒兼触杀 | 点滴法、浸叶法、饲料药膜法 |
| 乙基多杀菌素 | 乙酰胆碱酯酶 | 胃毒兼触杀 | 点滴法、浸叶法、饲料药膜法 |
| 虫螨腈 | 线粒体 | 胃毒兼触杀 | 点滴法、浸叶法、饲料药膜法 |
| 虱螨脲 | 昆虫表皮 | 胃毒 | 浸叶法、饲料药膜法 |