

不同杀虫剂选育对家蝇抗药性水平及 *kdr* 基因频率的影响

冷培恩^{1,*}, 张晓龙², 李春晓², 刘洪霞¹, 范明秋¹,
周毅彬¹, 董言德², 赵彤言²

(1. 上海市疾病预防控制中心, 上海 200336;

2. 军事医学科学院微生物流行病学研究所, 病原微生物生物安全国家重点实验室 北京 100071)

摘要: 采用杀虫剂(溴氰菊酯和甲基嘧啶磷)筛选及不接触药物自然衰退的方法,研究了家蝇 *Musca domestica* 氯氟氰菊酯高抗品系(Cyh-R)对杀虫剂的抗性变化,探讨蝇类抗药性治理的方法。用点滴法测定氯氟氰菊酯对不同家蝇品系的毒力,比较抗药性的变化,结合特异性等位基因 PCR 扩增(PASA)技术检测了不同家蝇品系的 *kdr* 基因频率,探讨 *kdr* 基因频率与抗性水平之间的关系。结果表明:甲基嘧啶磷筛选后,氯氟氰菊酯对第2~8代 Cyh-R 品系的 LD₅₀呈递减趋势,从 F₀ 的 2.8434 μg/蝇降为 F₈ 的 0.4404 μg/蝇,但第8~18代 Cyh-R 品系的 LD₅₀呈逐代递增趋势;溴氰菊酯筛选后,氯氟氰菊酯对 Cyh-R 品系第2~16代的 LD₅₀呈上升趋势,从 F₀ 的 2.8434 μg/蝇升至 F₁₆ 的 24.3249 μg/蝇;表明了施用有机磷杀虫剂可降低其对氯氟氰菊酯的抗药性,而施用拟除虫菊酯药剂则有助于其对氯氟氰菊酯抗药性的增长;不使用任何杀虫剂也能降低其对氯氟氰菊酯的抗药性,但下降速率低于甲基嘧啶磷。PASA 技术检测表明 Cyh-R 品系的 *kdr* 抗性基因频率为 88.8%,不经过任何药剂筛选其 *kdr* 抗性基因频率下降程度最大,达到 69.7%;甲基嘧啶磷筛选后其结果降为 78.8%,而经溴氰菊酯筛选后 *kdr* 抗性基因频率则明显升高,达到 98.9%。通过对 *kdr* 抗性基因频率和抗性水平进行相关和回归分析表明 *kdr* 抗性基因频率与家蝇对氯氟氰菊酯的 LD₅₀呈对数关系,即 LD₅₀值高的品系其 *kdr* 抗性基因频率相应的也较高。建议在家蝇防治中考虑轮换用药。

关键词: 家蝇; 氯氟氰菊酯; 杀虫剂筛选; 抗药性治理; *kdr* 基因频率

中图分类号: Q965.9 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2009)01-59-06

Effects of selection by several insecticides on resistance levels and *kdr* allele frequency of housefly, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae)

LENG Pei-En^{1,*}, ZHANG Xiao-Long², LI Chun-Xiao², LIU Hong-Xia¹, FAN Ming-Qiu¹, ZHOU Yi-Bin¹, DONG Yan-De², ZHAO Tong-Yan² (1. Shanghai Municipal Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200336, China; 2. Department of Vector Biology and Control, State Key Laboratory of Pathogen and Biosecurity, Institute of Microbiology and Epidemiology, Chinese Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071, China)

Abstract: The high-level resistant strain (Cyh-R) of *Musca domestica* to cyhalothrin was selected by using deltamethrin and pirimiphos-methyl to study the effects of several insecticides on Cyh-R housefly strain and explore the methods of housefly resistance management. The knockdown resistance (*kdr*) allele frequencies of these housefly strains were detected with PCR amplification of specific allele (PASA) technology in order to study the relationship of *kdr* allele frequency and resistance level. The results showed that the toxicity of cyhalothrin to Cyh-R strain after selection with pirimiphos-methyl tended to decline. The LD₅₀ value dropped from 2.8434 μg/housefly in F₀ to 0.4404 μg/housefly in F₈. However, the toxicity of cyhalothrin to Cyh-R strain after selected with deltamethrin tended to rise. The LD₅₀ value increased from 2.8434 μg/housefly in F₀ to 24.3249 μg/housefly in F₁₆. These results suggest that the high-level resistance of housefly strain to cyhalothrin could decline with the application of organophosphate pesticide or without insecticides, while increase with the application of pyrethroids. The results of PASA showed that *kdr* allele frequency of Cyh-R strain was 88.8%. The *kdr* allele frequency

基金项目: 上海市科委科技攻关项目(024119051)

作者简介: 冷培恩,男,1963年生,主任医师,主要从事媒介生物防制研究, Tel.: 021-62092395

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: peleng@scdc.sh.cn

收稿日期 Received: 2008-04-30; 接受日期 Accepted: 2008-12-16

decreased to 69.7% without insecticide selection and 78.8% after pirimiphos-methyl selection, respectively, while increased greatly after deltamethrin selection, amounting to 98.9%. The results further indicate that there is a positive correlation between *kdr* allele frequency and LD₅₀ value of cyhalothrin.

Key words: *Musca domestica*; lambda-cyhalothrin; insecticide selection; resistance management; *kdr* allele frequency

20 世纪 80 年代以来,拟除虫菊酯类杀虫剂在我国广泛应用于卫生害虫的防治,但其易发生抗性的问题影响了媒介昆虫的防治和虫媒病的控制。已有许多地区报道家蝇 *Musca domestica* 对溴氰菊酯、氯氟氰菊酯等拟除虫菊酯类杀虫剂产生了抗药性,有些地区甚至呈现高抗性。近年来,国内外学者均提出合理混用和轮用杀虫剂是防止和延缓抗性的重要策略之一 (Georghiou, 1986; 李松岗和张宗炳, 1990)。在国内外实验室研究和实际应用中,混用和轮用也起到了一定延缓抗性的作用 (张文吉等, 1995)。

研究表明昆虫对拟除虫菊酯类杀虫剂的抗性主要是击倒抗性 (knockdown resistance, *kdr*)。Farnham (1973) 发现 *kdr* 基因在家蝇对拟除虫菊酯的抗性中具有重要作用。位于 *para* 型钠离子通道 *Vssc1* 基因上的 L1014F (亮氨酸到苯丙氨酸) 的突变和击倒抗性相关 (Williamson *et al.*, 1996)。*kdr* 基因可以作为家蝇对拟除虫菊酯产生抗性的一个分子标记,通过监测 *kdr* 等位基因或基因型频率,可以了解抗性基因在种群遗传结构中的状态。

曹晓梅等 (2004) 和 Cao 等 (2006) 应用特异性等位基因 PCR 扩增 (PCR amplification of specific allele, PASA) 方法对天津、北京和张家口地区的 8 个野外种群家蝇 *kdr* 基因频率与对溴氰菊酯的生物测定结果之间进行相关与回归分析发现,两者有显著的线性相关关系,说明 *kdr* 基因频率在某种程度上可以作为衡量种群对拟除虫菊酯抗性程度的指标。

为探讨家蝇在拟除虫菊酯类杀虫剂选育后的抗性发展趋势,了解拟除虫菊酯类杀虫剂与其他杀虫剂的交互抗性,作者在实验室内用溴氰菊酯对敏感品系家蝇进行了逐代选育,同时使用甲基嘧啶磷和溴氰菊酯对氯氟氰菊酯高抗性品系进行了逐代筛选。为进一步探讨 *kdr* 基因频率与抗性水平之间的关系,以及各品系中 *kdr* 等位基因的遗传结构特征,本文采用 PASA 技术,对经溴氰菊酯筛选的敏感品系家蝇和经甲基嘧啶磷、溴氰菊酯筛选以及不用杀虫剂筛选的氯氟氰菊酯高抗性品系家蝇进行 *kdr* 基因频率的检测,同时测定各品系家蝇对溴氰菊酯和氯氟氰菊酯的抗性水平,为延缓家蝇抗性的产生以及加强抗性治理提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试虫来源

Lab-S 家蝇品系为本实验室饲养的家蝇敏感品系。CAS-S 和 Cyh-R 品系分别为从中国科学院上海生命科学研究院植物生态生理研究所引进的家蝇敏感品系和氯氟氰菊酯高抗品系。

1.2 供试试剂、药剂及仪器

甲基嘧啶磷 (90% 原药) 由湖南海利化工股份有限公司提供; 溴氰菊酯 (98.2% 原药)、氯氟氰菊酯 (95.1% 原药) 由南京军事医学科学院提供。丙酮、乙醚分别为国产分析纯。1 μ L 移液器 (Eppendorf AG, Germany), 冷冻操作台 (BioQUTP, 美国), PCR 仪和电泳槽 (Bio-RAD, USA)、紫外成像仪 (Bio-RAD, Italy)。

1.3 抗性品系的筛选

用丙酮将溴氰菊酯、甲基嘧啶磷以及氯氟氰菊酯配制成所需浓度。将饲养笼放入到喷雾塔中,吸取 2 mL 待测药液,放入喷洒器皿中,通过气泵喷洒。用目测法观察,当笼内 50% 家蝇被击倒时,取出饲养笼,并记录从喷药到取出饲养笼所用时间。受药家蝇产卵羽化后的家蝇即为下一代,每代都进行喷药筛选。用溴氰菊酯对 Lab-S 品系进行连续筛选,筛选 10 代后的品系定名为敏溴 (MX) 品系; 用溴氰菊酯和甲基嘧啶磷分别对 Cyh-R 进行连续筛选,隔代以点滴法测定氯氟氰菊酯的 LD₅₀, 其中以甲基嘧啶磷筛选 6 代后的品系定名为中甲 (ZJ) 品系,以溴氰菊酯筛选 8 代后的品系定名为中溴 (ZX) 品系,不用任何药物筛选正常饲养 8 代后的品系定名为中衰 (ZS) 品系。

1.4 杀虫剂毒力测定

用丙酮将杀虫剂配制成 10 μ g/ μ L 的母液,按一定比例稀释成所需浓度梯度。取 3~5 日龄成蝇,用乙醚麻醉几十秒至两分钟; 将麻醉的家蝇倒在平皿上,挑取雌虫。取 1 μ L 药剂,点于雌虫中胸背板上,收集于罐头瓶中,每组 20~25 头,每个剂量 2~

3 组,共 5 ~ 7 个剂量。设 2 组阴性对照,对照组滴丙酮。罐头瓶内放 0.1% 葡萄糖沾水棉球,瓶口用纱布扎紧,观察 24 h 后的死亡率。数据用 log 剂量-死亡率机率值曲线分析 (Finney, 1971; Raymond *et al.*, 1993)。抗性倍数为野外种群 LD₅₀ 与敏感种群 LD₅₀ 的比值。

1.5 PASA 法检测 *kdr* 基因频率

参照 Jamroz 等 (1998) 和 Zhang 等 (1999) 方法并略有改动。采用竞争性 PASA 方法进行两个 PCR 反应检测不同抗性种群的 *kdr* 基因型。设计的上游引物为 5'-CTGGAATTTACCGACTTC-3', 下游引物为 5'-GCAAAAGCTAAGAAAAGATTAAGA-3'。PCR 反应体系的总体积为 30 μL, 包括模板 DNA 80 ~ 100 ng, pH 8.3, 14 mmol/L Tris-HCl, 70 mmol/L KCl, 4.5 mmol/L MgCl₂, 0.15 mmol/L dNTP 和 0.67U TaKaRa rTaq。PCR 扩增的优化条件为 96℃

预变性 2 min, 94℃ 变性 50 s, 60℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 1 min, 共 36 个循环, 但在第 2 个 PCR 反应中其延伸时间变为 5 min。用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物, 电泳缓冲液为 TAE 缓冲液。电泳产物经溴乙锭染色后用紫外成像系统进行观察、照相。

1.6 数据分析

用 SAS6.12 软件对家蝇抗性品系 *kdr* 基因频率与拟除虫菊酯抗性水平进行相关与回归分析。

2 结果与分析

2.1 MX 品系对溴氰菊酯毒力测定结果

溴氰菊酯对家蝇 Lab-S 品系进行连续筛选 10 代和 16 代后, 其 LD₅₀ 值由初始的 0.0007 μg/♀ 分别上升至 0.0052 和 0.0238 μg/♀, 抗性倍数分别上升了 7.43 和 33.96 倍 (表 1)。

表 1 溴氰菊酯对 Lab-S 和 MX 品系的毒力测定结果

Table1 The toxicity of deltamethrin to Lab-S strain and MX strain of *Musca domestica*

世代 Generation	LD ₅₀ (μg/♀)	95% 置信限 95% CL (μg/♀)	$y = a + bx$	抗性倍数* Resistance ratio
Lab-S (F ₀)	0.0007	0.0008 - 0.0006	$y = 18.9258 + 1.8984x$	1.00
MX (F ₁₀)	0.0052	0.0062 - 0.0044	$y = 12.4825 + 1.4226x$	7.43
MX (F ₁₆)	0.0238	0.0291 - 0.0194	$y = 9.6967 + 1.2560x$	33.96

* 抗性倍数 = 筛选后 LD₅₀/筛选前 LD₅₀; 下同。Resistance ratio = LD₅₀ after selection/ LD₅₀ before selection; The same below.

2.2 甲基嘧啶磷和溴氰菊酯对 Cyh-R 品系的抗性筛选

用甲基嘧啶磷、溴氰菊酯对 Cyh-R 品系进行连续筛选, 隔代测定氯氟氰菊酯 LD₅₀ 值。结果显示, 经甲基嘧啶磷 8 代筛选后, Cyh-R 品系的 LD₅₀ 值由 2.8434 μg/♀ 下降为 0.4404 μg/♀, 抗性水平下降至 0.15 倍, 进一步筛选抗性又有所回升; 而溴氰菊酯筛选 16 代后, Cyh-R 品系的 LD₅₀ 值由 2.8434 μg/♀ 上升为 24.3429 μg/♀, 抗性水平上升至原来的 8.55 倍 (表 2)。以上结果说明, 有机磷杀虫剂可降低 Cyh-R 品系对氯氟氰菊酯的抗药性, 而拟除虫菊酯药剂则会提高 Cyh-R 品系对氯氟氰菊酯的抗药性。

2.3 PASA 方法检测不同品系 *kdr* 等位基因型

以敏感品系 Lab-S 和 CAS-S 及其他抗药性品系为 DNA 模板, 按照优化的 PCR 反应体系及条件, 检测出敏感纯合子 (SS)、*kdr* 抗性杂合子 (RS) 和 *kdr*

抗性纯合子 (RR) (图 1)。

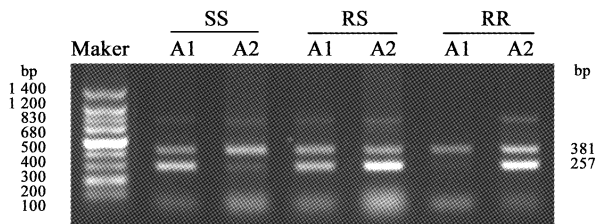


图 1 PASA 方法从家蝇敏感品系和野外种群中检测出敏感纯合子 (SS), *kdr* 抗性杂合子 (RS) 及 *kdr* 抗性纯合子 (RR) 个体
Fig. 1 Susceptible homozygote (SS), *kdr* heterozygote (RS) and *kdr* resistant homozygote (RR) detected from susceptible strain and field population of *Musca domestica* respectively by PASA method
Marker: DNA 分子量标准 DNA molecular weight marker; A1: 敏感等位基因特异性内引物 Susceptible allele specific primer; A2: 抗性等位基因特异性内引物 Resistant allele specific primer; 381 bp 为非特异性外引物的扩增带, 257 bp 为特异性内引物的扩增带 381 bp PCR product was amplified with non-specific primer and 257 bp PCR product was amplified with non-specific primer.

用 PASA 检测随机抽取的 263 头家蝇个体基因

型及统计结果(表3)表明,在敏感品系 Lab-S 和 CAS-S 和 MX(F₁₀)品系中只检测到敏感纯合子 SS。Cyh-R 品系的 *kdr* 抗性基因频率为 88.80%,经甲基嘧啶磷 6 代筛选后,ZJ 品系的 *kdr* 抗性基因频率降

为 78.80%;经溴氰菊酯 8 代筛选后,ZX 品系的 *kdr* 抗性基因频率上升为 98.90%;而不经任何杀虫剂筛选饲养 8 代后,ZS 品系的 *kdr* 抗性基因频率降为 69.70%。

表 2 氯氟氰菊酯对甲基嘧啶磷和溴氰菊酯筛选的 Cyh-R 品系的毒力测定
Table 2 The toxicity of cyhalothrin to the Cyh-R strains selected by pirimiphos-methyl and deltamethrin

甲基嘧啶磷筛选 Selected by pirimiphos-methyl	氯氟氰菊酯 LD ₅₀ Cyhalothrin (μg/housefly)	抗性下降比例 Resistance ratio	溴氰菊酯筛选 Selected by deltamethrin	氯氟氰菊酯 LD ₅₀ Cyhalothrin (μg/housefly)	抗性倍数 Resistance ratio
F ₀	2.8434	1.00	F ₀	2.8434	1.00
F ₂	2.6220	0.92	F ₂	2.4103	0.85
F ₄	0.5579	0.20	F ₄	1.0991	0.39
F ₆	0.6201	0.22	F ₈	4.0882	1.44
F ₈	0.4404	0.15	F ₁₀	12.9881	4.57
F ₁₂	0.8180	0.29	F ₁₄	16.3745	5.76
F ₁₄	1.7829	0.63	F ₁₆	24.3249	8.55
F ₁₆	1.5510	0.55	F ₁₈	1.9653	0.69

表 3 不同家蝇品系 *kdr* 等位基因频率及基因型频率
Table 3 *kdr*-allele frequency and genotype frequency of different strains of *Musca domestica*

家蝇品系 Strain	个体数 Number	敏感等位基 因频率(%)	抗性等位基 因频率(%)	敏感纯合子(SS) Susceptible homozygote		杂合子(RS) Heterozygote		抗性纯合子(RR) Resistant homozygote	
		Susceptible allele frequency	Resistant allele frequency						
				个体数 Individuals	频率(%) Frequency	个体数 Individuals	频率(%) Frequency	个体数 Individuals	频率(%) Frequency
Lab-S(F ₀)	30	100	0	30	100	0	0	0	0
CAS-S	30	100	0	30	100	0	0	0	0
Cyh-R	40	11.20	88.80	2	5	5	12.50	33	82.50
MX(F ₁₀)	40	100	0	40	100	0	0	0	0
ZJ(F ₆)	40	22.20	78.80	2	5	13	32.50	25	62.50
ZX(F ₈)	45	1.10	98.90	0	0	1	2.200	44	97.80
ZS(F ₈)	38	30.30	69.70	5	13.20	13	34.20	20	52.60

敏感等位基因频率(S)% = [(SS 个体数 × 2 + RS 个体数) × 1/2 / 总个体数] × 100% Susceptible allele frequency(S)% = [(Number of SS flies × 2 + Number of RS flies) × 1/2 / Total number of flies assayed] × 100%; 抗性等位基因频率(R)% = [(SS 个体数 × 2 + RS 个体数) × 1/2 / 总个体数] × 100% Resistant allele frequency(S)% = [(Number of RR flies × 2 + Number of RS flies) × 1/2 / Total number of flies assayed] × 100%

2.3 LD₅₀与 *kdr* 基因频率相关分析

从 CAS-S, Cyh-R, ZJ, ZX 和 ZS 品系对氯氟氰菊酯毒力测定结果及 *kdr* 基因频率分布结果来看, LD₅₀ 值高的品系其 *kdr* 频率也较高, SAS6.12 对二者之间的相关与回归关系分析表明, *kdr* 等位基因频率(*R*%) 与氯氟氰菊酯的 LD₅₀ 呈对数相关关系, *R*² = 0.9690, *P* = 0.0020 < 0.05(图2)。

3 讨论

使用溴氰菊酯对 Lab-S 敏感品系家蝇进行筛选后, 10 代和 16 代抗性倍数分别上升了 7 倍和 35.6 倍, 而在 MX 品系中未检测到 *kdr* 抗性基因, 说明溴氰菊酯筛选形成的抗性, 并非由抗击倒基因造成, 参

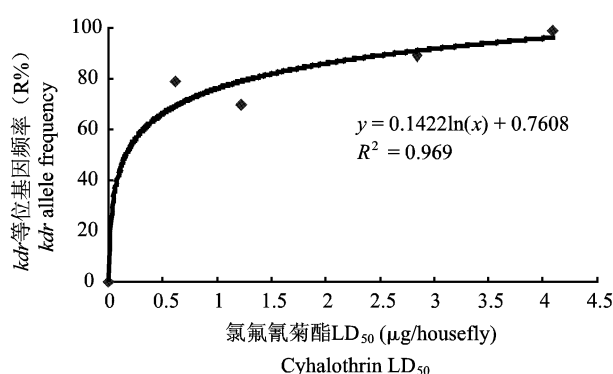


图2 Cyh-S, Cyh-R, ZJ, ZX 和 ZS 品系的

kdr 基因频率及氯氟氰菊酯 LD₅₀ 值的相关回归关系Fig. 2 Relationship between *kdr* allele (R) frequency of Cyh-S, Cyh-R, ZJ, ZX and ZS strains and the LD₅₀ value of cyhalothrin

与抗性形成的可能是代谢抗性。不同家蝇种群,即使在相同杀虫剂(氯菊酯)的选择作用下,家蝇进化出的抗性基因也是不同的。日本 YPER 家蝇品系对氯菊酯高于 18 000 倍的抗性表现出多基因和不完全隐性特征(Shono *et al.*, 2000),该品系家蝇抗性可被单加氧酶抑制剂降低,且其微粒体 P450 含量是敏感家蝇的 3 倍,说明 P450 的超量表达也是抗性的主要原因。在曹晓梅等(2004)的研究中也发现,北京地区的家蝇种群对溴氰菊酯抗性也包括多功能氧化酶解毒作用增强。

杀虫剂的轮用能延缓抗性的产生,是因为抗性是在杀虫剂存在条件下“瞬间进化”的结果,由于抗性基因与生殖上的劣势连锁在一起,所以一旦杀虫剂选择压力消失,抗性个体的生殖适应性要比敏感个体低,因而抗性基因在种群中的频率就有所下降。本实验用甲基嘧啶磷对 Cyh-R 品系(氯氟氰菊酯高抗性品系)进行连续筛选 6 代,发现 Cyh-R 品系家蝇的抗性倍数下降为筛选前的 0.22 倍,其 *kdr* 抗性基因频率由 88.8% 降为 78.8%。而选用溴氰菊酯对 Cyh-R 品系进行连续筛选 8 代, Cyh-R 品系家蝇的抗性倍数则上升至筛选前的 1.44 倍,其 *kdr* 抗性基因频率也由原来的 88.8% 上升为 98.9%。这与之前的研究结果相符。高希武(1990)指出轮用杀虫剂应选用不同作用机制的药剂,尤其是负交互抗性的药剂,这是因为同类药剂的潜在抗性机制可能相同(靶标变构),易产生正交互抗性。本实验中,甲基嘧啶磷与氯氟氰菊酯之间存在着副交互作用,两种药剂间隔筛选后可使其抗性降低;而由于溴氰菊酯与氯氟氰菊酯之间存在着正交互作用,两种药剂筛选使用后其抗性不降反升,结

果与高希武(1990)的观点相符,表明了有机磷和拟除虫菊酯类药剂轮换有利于家蝇拟除虫菊酯抗药性的抑制和削弱。

击倒抗性是家蝇对拟除虫菊酯抗性的一个重要机制。Valles 等(2003)通过研究发现德国小蠊 *Blattella germanica* 氯氟氰菊酯抗性品系 *kdr* 基因频率与其抗性高低成线性相关,为进一步明确家蝇抗性 *kdr* 基因频率与其抗性高低的关系。本文将 CAS-S, Cyh-R, ZJ, ZX 和 ZS 品系的氯氟氰菊酯毒力测定结果与其 *kdr* 基因频率之间进行相关性分析,结果显示二者之间存在着对数相关关系,抗性基因频率高的品系,其 LD₅₀ 值也相应的高,这一结果说明, PASA 方法对抗性种群进行抗性基因频率检测在某种程度上可以作为衡量家蝇种群对拟除虫菊酯抗性程度的指标。

尽管击倒抗性以及超击倒抗性突变都能引起家蝇对拟除虫菊酯的抗性,且超击倒抗性基因突变往往与高抗性有关,但由于本文旨在通过利用分子生物学方法建立家蝇 *kdr* 基因频率与其抗性高低的关系,了解家蝇抗性种群的发生和发展动态,以便更好地指导杀虫剂的合理使用,因此对该种群中可能存在的其他抗性机制尚未进行深入的了解和探究。由于家蝇的抗性是由多种机制参与的,在实际工作中, PASA 检测技术仍需要与传统的生物测定方法结合使用,才能全面正确地认识和了解抗性的发生、发展动态以及基因在种群中交流情况。

参考文献(References)

- Cao XM, Song FL, Zhao TY, Dong YD, Sun CX, Lu BL, 2006. Survey of deltamethrin resistance in house flies (*Musca domestica*) from urban garbage dumps in Northern China. *Environment Entomology*, 35(1): 1-9.
- Cao XM, Song FL, Zhao TY, Dong YD, Sun CX, 2004. Relationship between *kdr* allele and deltamethrin resistance in house fly (*Musca domestica*). *Acta Parasitologica and Medica Entomologica Sinica*, 11(4): 223-229. [曹晓梅, 宋锋林, 赵彤言, 董言德, 孙晨熹, 2004. *kdr* 等位基因频率与家蝇对溴氰菊酯抗性的关系. 寄生虫与医学昆虫学报, 11(4): 223-229]
- Farnham AW, 1973. Genetic of resistance of pyrethroid-selected houseflies, *Musca domestica* L. *Pesticide Science*, 4: 513-520.
- Finney DJ, 1971. Probit Analysis. 3rd ed. University Press, Cambridge, UK.
- Georghiou GP, 1986. Pesticide Resistance: Strategies and Tactics for Management. National Academy Press, Washington, DC. 14.
- Jamroz RC, Guerrero FD, Kammlah DM, Kunz SE, 1998. Role of the *kdr* and super-*kdr* sodium channel mutations in pyrethroid

- resistance: Correlation of allelic frequency to resistance level in wild and laboratory populations of horn flies (*Haematobia irritans*). *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 28: 1 031 – 1 034.
- Li SG, Zhang ZB, 1990. Application of rational mixture use of insecticides as a strategy for resistance management. *Acta Entomologica Sinica*, 33 (3): 280 – 287. [李松岗, 张宗炳, 1990. 杀虫剂混用方法——抗性治理的一种策略. 昆虫学报, 33(3): 280 – 287]
- Raymond MG, Prato, Ratsira D, 1993. PROBIT Analysis of Mortality Assays Displaying Quantal Response. Version 3. 3. Licence L93019. Praxeme, 34680 St. Georges d'Orques, France.
- Shono T, Kasai S, Kamiya E, Kono Y, Scott JG, 2002. Genetics and mechanisms of permethrin resistance in the YPER strain of house fly. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 73: 27 – 36.
- Williamson MS, Martinez-Torres D, Hick CA, Devonshire AL, 1996. Identification of mutation in the housefly *para*-type sodium channel gene associated with knockdown resistance (*kdr*) to pyrethroid insecticides. *Molecular and General Genetics*, 252: 51 – 60.
- Zhang AG, Dunn JB, Clark JM, 1999. An efficient strategy for validation of a point mutation association with acetylcholinesterase sensitivity to azinphosmethyl in Colorado potato beetle. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 65: 25 – 35.
- Zhang WJ, Han XL, Li XF, Yuan ZA, 1995. The effect of mixture of phoxim and deltamethrin on development of resistance in housefly. *Acta Entomologica Sinica*, 38(1): 25 – 30. [张文吉, 韩熹来, 李学锋, 袁正安, 1995. 辛硫磷和溴氰菊酯混剂对家蝇抗性发展的影响. 昆虫学报, 38(1): 25 – 30]
- Gao XW, 1990. Effects of mixed and rotational uses and dosage of insecticides on resistance development of pest. *Agro-environment Protection*, 9(1): 31 – 33. [高希武, 1990. 杀虫剂混用、轮用以及施药剂量对害虫抗药性发展的影响. 农业环境保护, 9(1): 31 – 33]
- Valles SM, Perera OP, Strong CA, 2003. Relationship between the para-homologous sodium channel point mutation (g→c at nucleotide 2 979) and knockdown resistance in the Germany cockroach using multiplex polymerase chain reaction to discern genotype. *Journal of Economic Entomology*, 96: 885 – 891.

(责任编辑:赵利辉)