

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2024.01.021

张惠妍, 陈鑫, 张洪清, 等. 储粮害虫对磷化氢的抗性现状及其综合管理策略[J]. 粮油食品科技, 2024, 32(1): 161-167.

ZHANG H Y, CHEN X, ZHANG H Q, et al. Resistance of stored grain pests to phosphine and its integrated management strategy[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2024, 32(1): 161-167.

储粮害虫对磷化氢的抗性现状 及其综合管理策略

张惠妍^{1,2,3}, 陈鑫^{1,2}, 张洪清^{1,2}, 李燕羽^{1,2}✉, 田小卫³,
周桂明⁴, 陶海华⁵, 巩建民⁵

1. 国家粮食和物资储备局科学研究院 粮食储运研究所, 北京 100037;
2. 粮食储运国家工程研究中心, 北京 100037;
3. 天津农学院 园艺园林学院, 天津 300392;
4. 沧州渤海新区盛泰化工有限公司, 河北 沧州 061113;
5. 鑫微晟科技(上海)有限公司, 上海 200090)

摘要:熏蒸剂被世界卫生组织批准用于储存粮食, 对储存或运输粮食的区域进行消杀, 减少虫霉活动以减少储存损失。磷化氢具有经济性、易施用、扩散快、无残留综合性优势, 对各种仓储有害生物都具有很高的消杀作用, 成为世界上主要熏蒸剂之一。由于一些熏蒸剂淘汰, 加大了对磷化氢依赖性, 且由于缺乏规范性指导和磷化氢的不合理应用导致储粮害虫对磷化氢产生了严重的抗药性, 抗性发展危及到磷化氢的防治效果和可持续性。本文综述了国内外储粮害虫对磷化氢抗性现状和趋势, 解析了呼吸及表皮相关表达基因和解毒代谢酶的抗性遗传基础, 比较了联合国粮食及农业组织 (FAO) 测试、剂量生物测定法、快速击倒检测和分子鉴定四种抗性检测方法优缺点, 探索了熏蒸方案优化、实验室+实仓验证及应用建议的抗性管理关键策略, 以期今后磷化氢的科学合理使用和其他防治方法的开发提供参考信息。

关键词: 磷化氢; 抗性; 遗传基础; 分子鉴定; 管理策略

中图分类号: S379.5 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2024)01-0161-07

Resistance of Stored Grain Pests to Phosphine and Its Integrated Management Strategy

ZHANG Hui-yan^{1,2,3}, CHEN Xin^{1,2}, ZHANG Hong-qing^{1,2}, LI Yan-yu^{1,2}✉, TIAN Xiao-wei³,
ZHOU Gui-ming⁴, TAO Hai-hua⁵, GONG Jian-min⁵

1. Institute of Grain Storage and Logistics, Academy of National Food and Strategic Reserves Administration, Beijing 100037, China;
2. National Engineering Research Centre for Grain Storage and Logistics, Beijing 100037, China;
3. College of Horticulture, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300392, China;
4. Cangzhou Bohai New Area Shengtai Chemical Co., Ltd, Cangzhou, Hebei 061113, China;

收稿日期: 2023-07-17

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (jy2203)

Supported by: Fundamental Research Funds of the Central Research Institutes (No. jy2203)

作者简介: 张惠妍, 女, 1999年出生, 在读硕士生, 研究方向为农业昆虫与害虫防治。E-mail: 15303887174@163.com

通讯作者: 李燕羽, 女, 1980年出生, 博士, 副研究员, 研究方向为生物科学。E-mail: lyy@ags.ac.cn

5. Xinweisheng Technology (Shanghai) Co., Ltd, Shanghai 200090, China)

Abstract: The fumigant has been approved by the World Health Organization for use in grain storage, targeting the eradication of pests in areas where grain is stored or transported to reduce insect and mold activities, thereby minimizing storage losses. Phosphine is featured by its economic viability, application readability, rapid diffusion, and lack of residue, making it advantageous for comprehensive pest control. It demonstrates high efficacy against various harmful organisms in storage, making it one of major fumigants worldwide. However, the elimination of some fumigants has increased dependence on phosphine. The lack of standardized guidance and inappropriate use of phosphine have led to severe resistance among stored grain pests, posing a threat to the effectiveness and sustainability of phosphine treatment. This paper provides a comprehensive review of the current status and trends of phosphine resistance in stored grain pests on the global. It analyzes the genetic basis of resistance, focusing on respiratory and cuticle-related gene expression and detoxification enzyme mechanisms. A comparison of four resistance detection methods—FAO, discriminating does bioassay, rapid knockdown, and molecular identification—is rendered. The study explores key strategies for resistance management, including optimization of fumigation protocols, laboratory and field validations, and application recommendations. The aim is to offer reference information for the scientific and rational use of phosphine and the development of alternative pest control methods in the future.

Key words: phosphine; resistance; the genetic basis; molecular diagnosis; management strategy

当储粮害虫已经猖獗蔓延, 或隐匿于不易察觉和难以触及的地方时, 用一般药剂防治不能立即收效, 使用熏蒸剂可以取得非常好的效果。熏蒸剂是一种能够气化的, 具有扩散和渗透性好, 不易为粮粒吸附和易于通风散气特点的药剂, 广泛应用于处理被害虫感染的储粮, 也可应用于空仓、加工厂和包装物等。

20 世纪 60 年代, 由于政府对农药的管制, 导致一些老的熏蒸剂如四氯化碳 (Carbon Tetrachloride, CCL_4)、二硫化碳 (CS_2) 等使用减少, 溴甲烷因消耗大气臭氧层逐渐被禁止使用。通常为寻找一种经济有效熏蒸剂产品, 需要对 20 000 多种化合物进行广泛筛选。这个过程耗费高昂, 约在 6 000 万~1.5 亿美元, 至少 7~10 年才能推向市场。虽然国内外研究者一直在探索应用硫酰氟 (Sulfuryl Fluoride, SF)、甲酸乙酯 (Ethyl Formate, EF)、羰基硫 (COS)、环氧丙烷 (Propylene Oxide, PO), 根据相关研究显示, 硫酰氟^[1]会残留氟化物, 且是强的温室气体化合物。而甲酸乙酯的吸附性很强, 在投药之后浓度会急剧下降^[2]。磷化氢 (Hydrogen Phosphide, PH_3) 是保证无害虫和无残留商品从而促进国际贸易正常运行的一种重要熏蒸剂^[3],

20 世纪 30 年代首次在德国使用^[4], 一些综合特性是其很多替代品无法比拟的。首先, 仓储行业现有熏蒸剂中成本最低且易施用。其次, 固体片剂或气瓶的商业配方促进了其在多种类型的存储结构中的应用, 无论是筒仓、包装堆码、运输集装箱还是大型散装货。第三, 与空气的密度相似, 在商品中扩散快。第四, 熏蒸后会迅速分解, 残留极少。

近年来, 由于缺乏规范性指导和不合理应用导致害虫对磷化氢产生了严重的抗药性, 抗性意味着原先有效的控制措施逐渐失效, 迫使增加用药量和使用频率, 这不仅增加了成本, 还可能对生态环境造成影响。此外, 害虫的再猖獗不仅对食品数量和质量安全构成潜在威胁, 也会影响农产品价格和供应, 对整个社会经济系统造成影响。

目前, 关于储粮害虫磷化氢抗性强度的鉴定和表征方面仍未达成一致, 且毒性背后的科学认识有限, 尚未制定出合理科学的管理战略。本文概述了国内外储粮害虫磷化氢的抗性现状、抗性遗传基础、抗性强弱鉴定方法及关键管理策略, 以为科学合理使用和其他防治方法的开发提供参考理论。

1 国内外储粮害虫对磷化氢的抗性现状

与其它杀虫剂一样,害虫对磷化氢抗性是一种由基因控制且可遗传。20 世纪 70 年代, Champ 和 Dyte^[5]首次进行了全球性的磷化氢抗性调查,并记录了不同国家主要储粮害虫的抗性情况,存在强弱两个水平,在谷蠹^[6]和米象^[7]中,强抗性表型所需浓度分别为易感表型的 10~50 倍和 100 倍。

1.1 国外储粮害虫磷化氢抗性发展现状

澳大利亚进行国家性害虫抗性监测项目历史悠久,目标是“通过管理策略和实际应用中采用可行科学的管理策略来确保磷化氢的可持续性”^[8]。全球主要储粮害虫出现磷化氢抗性的频率很高。在澳大利亚,锈赤扁谷盗^[9]和嗜卷书虱^[10]发生强抗药性的频率很高。Opit 等^[8]确定赤拟谷盗和谷蠹的抗性远高于 20 年前。在北美,调查的 25 个赤拟谷盗种群中,几乎一半的种群表现出磷化氢抗性^[11]。

1.2 国内储粮害虫磷化氢抗性发展现状

自 1975 年,我国逐渐重视起储粮害虫对磷化氢的抗性。谷蠹作为一种重要蛀食性储粮害虫,从 1989 年全国不同地区磷化氢抗性监测网测定至今,各地区的种群普遍表现出抗性,在四川和湖南有上千和数百倍抗性系数的种群^[12]。嗜虫书虱对磷化氢普遍具有抗药性,是我国储粮行业普遍性问题,尤其在华南、华中和沿海地区。白青云等^[13]采集了各地区 15 个品系的嗜虫书虱调查磷化氢抗性,发现抗性程度从 7 倍到 80 倍不等。赤拟谷盗抗性品系目前在全国分布较为普遍。陈艳等^[14]2017 年采用联合国粮食及农业组织 (FAO) 检测法测定了海南地区 8 个品系的赤拟谷盗成虫的磷化氢抗性倍数,8 个品系抗性倍数在 612~1 045 之间,全部为高抗性 ($R_f > 160$)。

1.3 国际贸易

磷化氢具有替代溴甲烷进行检疫处理的潜力。储粮害虫在国际贸易中带有虫害的货物,在运输时需要进行熏蒸处理,但目前许多害虫种类对磷化氢抗性引起了人们的担忧。特别对在检查过程中不易察觉的害虫种类,如强抗药性的几种书虱^[15]和螨类或蛾类的低龄幼虫,都构成跨境生

物安全威胁。

2 抗性遗传基础

2.1 遗传和涉及的基因数量

2002 年, Collins^[16]根据 FAO 方法对两品系谷蠹进行了鉴定,一弱抗性品系,另一强抗性品系,发现对磷化氢的强抗性是由多个不完全隐性基因控制的。随后, Schlipalius 等^[17]利用 DNA 指纹图谱 (RAF) 的方法,从谷蠹抗性品系和敏感品系的遗传连锁图谱中鉴定了两个起决定作用的磷化氢高抗性基因位点 *rph1* 和 *rph2*。当两个基因单独存在时,使谷蠹产生弱抗性。当这两个基因同时出现时,协同作用比完全敏感的抗性水平高 250 倍。随后在米象^[7]和锈赤扁谷盗^[18]中也发现了这种现象。

通过各种基因定位技术对多种害虫的 *rph1* 基因进行鉴定。Schlipalius^[19]研究团队使用比较转录组学 (RNAseq) 和遗传连锁分析方法来进行鉴定,通过消除过程,在谷蠹、赤拟谷盗、米象和锈赤扁谷盗中鉴定出一个与抗性相关的单一基因 *rph1*,且 *rph1* 基因变异体对磷化氢具有抗性。高通量基因组测序的出现促进了 *rph2* 基因及其变体的鉴定,强抗性总是与 *rph2* 基因的纯合性相关。

2.2 抗性机制

要解决害虫对磷化氢的抗性,首先应当了解害虫的抗性机制。在相同的环境下,磷化氢敏感品系的储粮害虫相较于抗性品系呼吸速率明显表现出较高的水平,造成敏感品系对磷化氢的摄入量明显高于抗性品系,这被认为是储粮害虫产生磷化氢抗性的重要方式之一。对抗性分子机制深入探索发现,昆虫主要通过调控线粒体及呼吸代谢相关基因的表达水平来降低呼吸速率,从而减少对熏蒸剂的吸收。其中线粒体重要的二氢硫辛酰胺脱氢酶 (DLD) 基因突变已被证实参与介导赤拟谷盗对磷化氢的抗性形成。Schlipalius^[20]研究团队利用转录组测序和遗传连锁分析,在锈赤扁谷盗的磷化氢抗性品系中鉴定了候选抗性基因 (*rph1*)。然后将其与之前赤拟谷盗中定位的 17 个候选抗性基因进行比对,发现只有一个直系同源基因,即细胞色素 b5 脂肪酸去饱和酶 (Cyt-b5-r) 基因,在所测物种中都与 *rph1* 基因

座相关。该基因在 18 个磷化氢抗性品系中均存在错义氨基酸替换和/或插入/缺失/移码变异,而在敏感品系中均未观察到。因此该团队提出了一个磷化氢作用和抗性关系的模型,其中磷化氢通过 DLD 产生的活性氧(ROS)诱导脂质过氧化,而抗性害虫中的细胞色素 b5 还原酶(Cyt-b5-r)的破坏降低了细胞膜的多不饱和脂肪酸含量,从而限制了脂质过氧化的潜力。

此外,研究人员发现害虫在形成磷化氢抗性时,其解毒代谢反应也发挥着作用。谷胱甘肽硫转移酶(Glutathione S-transferases, GSTs)、细胞色素 P450(CYP450)、羧酸酯酶(Carboxylesterase, CarE)等解毒代谢酶均被证实在抗性形成过程中发挥重要作用^[21]。

昆虫发展出另一种重要机制来应对杀虫剂,即改变表皮结构和成分。这种表皮穿透性调节不仅能够阻止杀虫剂的进入,还有助于减少杀虫剂对昆虫体内产生影响。正是这种机制使得昆虫能够逐渐形成抗药性。陈二虎^[22]等采用 RNA 干扰技术探究表皮相关基因 TcYellow-h 在赤拟谷盗磷化氢抗性形成过程中的功能,当注射该基因的 dsRNA 后, TcYellow-h 基因表达水平显著降低,磷化氢处理后对照组害虫的死亡率明显低于处理组,说明抑制 TcYellow-h 基因表达后可以显著增强赤拟谷盗对磷化氢的敏感性,进而证明 TcYellow-h 与赤拟谷盗磷化氢抗性相关。

3 鉴定方法

评估和量化储粮害虫种群对磷化氢抗性并不容易^[23]。针对不同的目的,目前已经开发了 FAO 检测法^[16]、剂量生物测定法和快速击倒测试。

传统的抗性监测是基于生物测定,但近年来开始使用分子鉴定来筛选抗性变异的可能性^[20]。

3.1 FAO 测试

评估磷化氢抗性的最常用方案是 FAO 检测法,建议在 25 °C 时将成虫暴露于推荐剂量的磷化氢中熏蒸 20 h,转至培养 14 d,记录最终死亡率,存活的试虫是抗性品系,未存活的为易感品系。

通过对 FAO 方法进行改进,建立浓度和暴露时间两个变量来鉴定抗性水平的强弱。例如,谷

蠹^[6]弱和强抗性的剂量分别为 20 mg/m³ (20 h) 和 180 mg/m³ (48 h);米象^[7]为 30 mg/m³ (20 h) 和 180 mg/m³ (20 h);赤拟谷盗^[11]为 20 mg/m³ (20 h) 和 180 mg/m³ (20 h)。

3.2 剂量生物测定法

另一个表征抗性强度的方法是剂量生物测定法,也称概率单位生物测定法。该方法在固定作用时间下,目标种群个体的抗性程度根据磷化氢浓度从极低(<1 mg/m³)到极高(1 000~2 000 mg/m³或更高)来划分。优点在于可以利用多个浓度进行评估,通过回归分析来推导致死浓度,并分离出强弱抗性^[25]。由于需要专业人员和特定的实验室设备,仍在试行中。

3.3 快速击倒检测

FAO 推荐方法的主要缺点是,尽管暴露时间很短,但达到终点死亡率时间长,抗性鉴定至少需要一周。此外,如果原始采样的昆虫数量太少(低于 50),则需要时间来饲养新种群才能进行测试。抗性快速测定方法可用于快速制定熏蒸决策和指导抗药性治理措施。

Winks 等^[26]研究发现,储粮害虫在磷化氢作用下产生保护性昏迷的时间与抗性水平有关。快速击倒检测可以对储粮害虫磷化氢的抗性程度进行定性和定量,测定时间较短,基层技术人员易掌握,且不受种群中敏感和强抗性个体的影响。曹阳等^[27]利用快速击倒方法测试磷化氢对七种储粮害虫效果,观察记录试虫击倒症状及击倒时间。实验结果显示抗性品系击倒中时间(Knockdown Time of Median, KDTm)明显比敏感品系长, KDTm 与 LC₅₀ 之间呈正相关性,与 FAO 法获得的抗性系数趋势相同。

Detia Degesch 磷化氢耐受性测试试剂盒(DDPTTK)作为储粮害虫抗性快速评估已超过 10 年,应用案例较多^[24]。与通常的死亡率评定方法不同,DDPTTK 作用模式是采用 3 000 mg/m³ 高浓度处理,通常以分钟作用时间来量化磷化氢敏感性的指标,易于实仓现场操作,不需要专业人员,很好区分弱抗性种群。

3.4 分子鉴定

强抗性基因 *rph2* 的鉴定使得开发诊断性分子

检测成为可能^[28]。其原理依赖于使用标记引物对 *rph2* 基因的外显子进行聚合酶链式反应 (PCR) 扩增, 然后将昆虫的所有扩增 DNA 混合在一起, 使用高通量 DNA 测序鉴定抗药性变异。该方法可用于大规模筛选野外采集昆虫的抗性变体。

强抗性要求同时存在 *rph1* 和 *rph2* 基因的纯合抗性变体, 但是在开发分子抗性测定时, 研究人员忽略了 *rph1*, 并假设 *rph1* 的抗性变体始终存在。尽管分子鉴定可作为表型测试的替代方法^[29], 但投资和应用成本高、专业强。此外, 分子鉴定依赖于 *rph2* 基因的功能突变, 这些突变与对磷化氢的强抗性有关, 与弱抗性无关, 即通过该方法判断为抗性的种群里可能含有部分的弱抗性表型^[30]。

4 磷化氢综合管理策略

4.1 优化磷化氢熏蒸方案

开发新型替代熏蒸剂的各个环节, 如挖掘、测试功效, 实仓检测, 安全性评估及法律注册等, 费用高时间长, 因此合理有效地延长磷化氢使用寿命至关重要^[31]。

一些生物和非生物因素会影响磷化氢的效果, 应在优化磷化氢熏蒸的研究中加以考虑。影响磷化氢效果的一个重要生物因素是昆虫的发育阶段。卵往往是最耐受的阶段^[32], 例如, 磷化氢完全致死嗜虫书虱成虫需 24 h, 而其卵则需 5 d。而且磷化氢熏蒸可刺激嗜虫书虱的生殖和推迟卵的孵化, 这无疑会影响磷化氢的熏蒸效果^[33]。因此, 在实际生产中, 需考虑混合虫态和卵发育时间延长等因素, 从而提出合适的熏蒸策略, 达到有效防治抗性种群的目的。

非生物因素包括气体浓度、密闭时间、温度等。增加浓度或延长熏蒸密闭时间都会提高磷化氢对抗性害虫的毒力, 通常熏蒸密闭时间比浓度更显著^[34]。温度也是一个很重要因素, 高温可增加昆虫的呼吸和新陈代谢速率, 使得熏蒸环境下害虫能吸入更多的磷化氢气体, 实现快速防治的目的。需要注意的一点是, 不同处理结合方式和顺序对于一种害虫种群防治效果影响很大, 如用高温 (30 °C) 处理 4 h, 然后转移至常温 (20 °C)

进行磷化氢熏蒸, 这种模式下防治效果就会大大降低, 研究发现短时高温胁迫诱导了害虫对磷化氢的抗性, 抗性倍数可提高 3 倍以上^[35]。

4.2 实验室研究 + 实仓验证

实验室研究可以为实仓熏蒸方案的制定和改进提供重要信息, 澳大利亚磷化氢钢瓶气的注册标签主要基于实验室对暴露于恒定浓度下的耐磷化氢种群实验数据^[36]。然而, 将实验室数据转化为实仓指南是一项挑战, 需要进行大量的实仓验证。商用磷化铝作为磷化氢源时需要进行大量商业规模的熏蒸实验, 但有关这样的研究发表很少, 而在磷化铝释放熏蒸过程中磷化氢浓度变化较大, 受外界因素 (如温度和湿度) 影响较大, 不同品牌间也存在差异, 会引起熏蒸效果不佳, 甚至存在安全隐患。因此, 需要更多类似的实仓研究, 从而为磷化氢熏蒸优化提供数据支撑。

4.3 混合熏蒸剂和磷化氢新剂型使用策略

近年来, 混合熏蒸成为了一个研究热点。与单独使用磷化氢熏蒸相比, 当磷化氢与其他药剂混合时, 对抗性害虫的毒性显著增强^[37] (毒性增强源于附加死亡率)。熏蒸过程中的氧浓度与磷化氢毒性呈正相关^[38], 高氧熏蒸大大减少了产后园艺虫害防治所需的暴露时间和磷化氢浓度^[39]。磷化氢与二氧化碳混合熏蒸也是目前比较具有应用潜力的方法, 30%浓度的二氧化碳对磷化氢具有协同增强作用^[40]。

熏蒸钢瓶液化气和惰性气体通过特制混配装置制成一定安全系数和压力范围的混合熏蒸气体, 具有以下优点: (1) 获得杀虫有效浓度速度快: 9 h (混合气): 72 h (磷化铝); (2) 杀虫速度快: 防治效果=CT, C↑, T↓; (3) 环境友好: 无熏蒸药渣处理要求; (4) 安全性能高: 配有管道气体吹扫系统、安全报警应急处理系统和实时浓度监控系统; (5) 兼容性强: 与环流系统和惰性气体产生系统可实现快速连接; (6) 应用面广: 大型粮库仓房、加工厂厂房和港口集装箱; (7) 机械自动化程度高: 混配系统可实现自动化; (8) 防化员劳动强度低: 无需入仓施药作业, 人力投入少; (9) 保障人员健康安全: 防化员毒气环境暴

露时间大大减少。

5 总结与展望

本文综述了主要储粮害虫磷化氢抗性发展现状,确定了两个负责强弱抗性表型的 *rph1* 和 *rph2* 基因。此外,鉴定方法的研发为抗性早发现提供了可能,DDPTTK 试剂盒对抗性具有定性和定量的功能,而分子鉴定可以筛选抗性基因。同时,应考虑一些生物和非生物影响因素,结合不同方式的作用机理,量化熏蒸气体浓度和密闭时间,指导实仓熏蒸方案的制定。

未来的研究需要聚焦于修改完善粮农组织的方法,开发出基于试验研究、经实地验证和高性价比的磷化氢抗性检测方法;降低分子鉴定方法的开发成本和缩短诊断验证的时间;加强对混合熏蒸及磷化氢新剂型的实践研究,促进磷化氢这一独特熏蒸剂的可持续发展。

参考文献:

- [1] 徐永安. 硫酰氟熏蒸技术应用与发展概要[J]. 粮油食品科技, 2021, 29(4): 50-56.
XU Y A. Summary of application and development of sulfuryl fluoride fumigation technology[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2021, 29(4): 50-56.
- [2] KYUNG Y, KIM H K, CHO S W, et al. Comparison of the efficacy and phytotoxicity of phosphine and ethyl formate for controlling *Pseudococcus longispinus* (Hemiptera: Pseudococcidae) and *Pseudococcus orchidicola* on imported foliage nursery plants[J]. Journal of Economic Entomology, 2019, 112(5): 2149-2156.
- [3] NAYAK M, DAGLISH G, PHILLIPS T. Managing resistance to chemical treatments on stored product pests[J]. Stewart Postharvest Review, 2015, 11.
- [4] CHAUDHRY M Q. Review A review of the mechanisms involved in the action of phosphine as an insecticide and phosphine resistance in stored product insects[J]. Pesticide Science, 1997, 49: 213-228.
- [5] CHAMP B R, DYTE C E. Report of the FAO global survey of pesticide susceptibility of stored grain pests[J]. FAO Plant Production and Protection Series: Rome, Italy, 1976, 13: 395-399.
- [6] COLLINS P J, FALK M G, NAYAK M K, et al. Monitoring resistance to phosphine in the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica*, in Australia: A national analysis of trends, storage types and geography in relation to resistance detections[J]. Journal of Stored Products Research, 2017, 70: 25-36.
- [7] HOLLOWAY J C, FALK M G, EMERY R N, et al. Resistance to phosphine in *Sitophilus oryzae* in Australia: A national analysis of trends and frequencies over time and geographical spread[J]. Journal of Stored Products Research, 2016, 69: 129-137.
- [8] OPIT G P, PHILLIPS T W, AIKINS M J, et al. Phosphine resistance in *Tribolium castaneum* and *Rhyzopertha dominica* from stored wheat in Oklahoma[J]. Journal of Economic Entomology, 2012, 105(4): 1107-1114.
- [9] NAYAK M K. Strong resistance to phosphine in the rusty grain beetle, *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) (Coleoptera: Laemophloeidae): its characterisation, a rapid assay for diagnosis and its distribution in Australia[J]. Pest Management Science, 2013, 69: 48-53.
- [10] NAYAK M K, COLLINS P J, PAVIC H, et al. Inhibition of egg development by phosphine in the cosmopolitan pest of stored products *Liposcelis bostrychophila* (Psocoptera: Liposcelidae) [J]. Pest Management Science:formerly Pesticide Science, 2003, 59(11): 1191-1196.
- [11] NAYAK M K, FALK M G, EMERY R N, et al. An analysis of trends, frequencies and factors influencing the development of resistance to phosphine in the red flour beetle *Tribolium castaneum* (Herbst) in Australia[J]. Journal of Stored Products Research, 2017, 72: 35-48.
- [12] 程宏, 王康旭, 车美玲, 等. 我国不同谷蠹种群的磷化氢抗性监测[J]. 粮食科技与经济, 2020, 45(9): 69-71+125.
CHENG G, WANG K X, CHE M L, et al. Determining of phosphine resistance in different population of *Rhyzopertha dominica* in china[J]. Grain science and technology and economy, 2020, 45(9): 69-71+125.
- [13] 白青云, 曹阳. 我国储粮书虱磷化氢抗性调查及测定[J]. 粮食储藏, 2007, 36(1): 4.
BAI Q Y, CAO Y. Resistance to phosphine in psocid(psocoptera) of stored grain in central storages in china[J]. Grain Storage, 2007, 36(1): 4
- [14] 陈艳, 张红建, 谢更祥, 等. 海南地区赤拟谷盗抗药性及磷化氢完全致死浓度与时间的研究[J]. 热带农业科学, 2017, 37(5): 63-66.
CHEN Y, ZHANG H J, XIE G X, et al. Resistance of *Tribolium castaneum* to phosphine and the relation between lethal phosphine concentration and exposure time in hainan province[J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2017, 37(5): 63-66.
- [15] NAYAK M K, COLLINS P J, THRONE J E, et al. Biology and management of psocids infesting stored products[J]. Annual Review of Entomology, 2014, 59(1): 279-297.
- [16] COLLINS P J, DAGLISH G J, MERVYN B, et al. Genetics of resistance to phosphine in *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae)[J]. Journal of Economic Entomology, 2002, (4): 862-869.
- [17] SCHLIPALIUS D I, CHENG Q, REILLY P E, et al. Genetic linkage analysis of the lesser grain borer *Rhyzopertha dominica*

- identifies two loci that confer high-level resistance to the fumigant phosphine[J]. *Genetics*, 2002, 161(2): 773-782.
- [18] JAGADEESAN R, COLLINS P J, NAYAK M K, et al. Genetic characterization of field-evolved resistance to phosphine in the rusty grain beetle, *Cryptolestes ferrugineus* (Laemophloeidae: Coleoptera)[J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2016, 127(4): 67-75.
- [19] SCHLIPALIUS D I, TUCK A G, JAGADEESAN R, et al. Variant linkage analysis using de novo transcriptome sequencing identifies a conserved phosphine resistance gene in insects[J]. *Genetics*, 2018, 209(1): 281-290.
- [20] JAGADEESAN R, SCHLIPALIUS D I, SINGARAYAN V T, et al. Unique genetic variants in *dihydrodiploamide dehydrogenase* (*dld*) gene confer strong resistance to phosphine in the rusty grain beetle, *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens)[J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2021, 171: 104717.
- [21] HUANG Y, LI F F, LIU M W, et al. Susceptibility of *Tribolium castaneum* to phosphine in China and functions of cytochrome P450s in phosphine resistance[J]. *Journal of Pest Science*, 2019, 92: 1239-1248.
- [22] 陈二虎, 孟宏杰, 陈艳, 等. 表皮蛋白基因 *TcCPI4.6* 和 *TcLCPA3A* 参与介导赤拟谷盗对磷化氢的抗性形成[J]. *中国农业科学*, 2022, 55(11): 2150-2160.
- CHEN E H, MENG H J, CHEN Y, et al. Cuticle protein genes *TcCPI4.6* and *TcLCPA3A* are involved in phosphine resistance of *Tribolium castaneum*[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2022, 55(11): 2150-2160
- [23] NAYAK M K, DAGLISH G J, PHILLIPS T W, et al. Resistance to the fumigant phosphine and its management in insect pests of stored products: A global perspective[J]. *Annual Review of Entomology*, 2019, 65: 333-350.
- [24] AGRAFIOTI P, ATHANASSIOU C G, NAYAK M K. Detection of phosphine resistance in major stored-product insects in Greece and evaluation of a field resistance test kit[J]. *Journal of Stored Products Research*, 2019, 82: 40-47.
- [25] AFFUL E, TADESSE T M, NAYAK M K, et al. High-dose strategies for managing phosphine-resistant populations of *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae)[J]. *Pest Management Science*, 2020, 76(5): 1683-1690.
- [26] WINKS R G. The toxicity of phosphine to adults of *Tribolium castaneum* (Herbst): Time as a dosage factor[J]. *Journal of Stored Products Research*, 1984, 20(1): 45-56.
- [27] 曹阳, 柏志美, 陈巨红, 等. 基于磷化氢击倒中时间的储粮害虫抗性快速测定方法研究[J]. *中国粮油学报*, 2006, (3): 184-188.
- CAO Y, BAI Z M, CHEN J H, et al. A quick method to measure phosphine resistance of stored grain insects basing on knockdown time of median(KDT_m) with phosphine treatment[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2006, (3): 184-188.
- [28] SCHLIPALIUS D, CHEN W, COLLINS P J, et al. Gene interactions constrain the course of evolution of phosphine resistance in the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica*[J]. *Heredity*, 2008, 100(5): 506-516.
- [29] CHEN Z, SCHLIPALIUS D, OPIT G, et al. Diagnostic molecular markers for phosphine resistance in U.S. populations of *Tribolium castaneum* and *Rhyzopertha dominica*[J]. *PLOS ONE*, 2015, 10(3): e0121343.
- [30] DAGLISH G, NAYAK M, PAVIC H, et al. Prevalence and potential fitness cost of weak phosphine resistance in *Tribolium castaneum* (Herbst) in eastern Australia[J]. *Journal of Stored Products Research*, 2015, 61: 54-58.
- [31] BELL C H. Fumigation in the 21st century[J]. *Crop Protection*, 2000, 19(8-10): 563-569.
- [32] LAMPIRI E, ATHANASSIOU C G. Insecticidal effect of phosphine on eggs of the khapra beetle (Coleoptera: Dermestidae) [J]. *Journal of economic entomology*, 2021, 114(3): 1389-1400.
- [33] LU Y J, WANG Z Y, WANG W D, et al. Effects of sublethal fumigation with phosphine on the reproductive capacity of *Liposcelis entomophila* (End.) (Psocoptera: Liposcelidae)[J]. *International Journal of Pest Management*, 2019, 66(3): 1-7.
- [34] WANG D X, COLLINS P J, GAO X W. Optimising indoor phosphine fumigation of paddy rice bag-stacks under sheeting for control of resistant insects[J]. *Journal of Stored Products Research*, 2006, 42: 207-217.
- [35] ALZHRANI S M, EBERT P R. Stress pre-conditioning with temperature, UV and gamma radiation induces tolerance against phosphine toxicity[J]. *PLOS ONE*, 2018, 13: e0195349.
- [36] NAYAK M, COLLINS P. Influence of concentration, temperature and humidity on the toxicity of phosphine to the strongly phosphine-resistant psocid *Liposcelis bostrychophila* Badonnel (Psocoptera: Liposcelidae)[J]. *Pest management science*, 2008, 64(9): 971-976.
- [37] YANG J, PARK Y, HYUN I H, et al. A combination treatment using ethyl formate and phosphine to control *planococcus citri* (Hemiptera: Pseudococcidae) on pineapples[J]. *Journal of Economic Entomology*, 2016, 109(6): 2355-2363.
- [38] COTTON R T. The relation of respiratory metabolism of insects to their susceptibility to fumigants[J]. *Journal of Economic Entomology*, 1932, 25: 1088-1103.
- [39] LIU Y B. Oxygenated phosphine fumigation for control of *Nasonovia ribisnigri* (Homoptera: Aphididae) on harvested lettuce [J]. *Journal of Economic Entomology*, 2012, 105: 810-816.
- [40] CONSTANTIN M, JAGADEESAN R, CHANDRA K, et al. Synergism between phosphine (PH₃) and carbon dioxide (CO₂): implications for managing PH₃ resistance in rusty grain beetle (Laemophloeidae: Coleoptera)[J]. *Journal of economic entomology*, 2020, 113: 1999-2006. 