

浸叶法监测萧县棉铃虫抗药性及机理研究

韩道一¹, 王向阳² (1. 安徽省植物保护总站, 安徽合肥 230001; 2. 安徽省萧县植物保护站, 安徽萧县 235200)

摘要 通过1996~2005年用浸叶法在安徽萧县测定棉铃虫的抗药性, 明确棉铃虫对氯氰菊酯、高效氯氰菊酯、灭多威、久效磷、辛硫磷的抗性水平及发展动态, 从棉田用药历史、棉铃虫自身发生程度、转B基因抗虫棉的推广、测定药剂和监测方法的差异等方面, 分析棉铃虫抗药性演化的原因。

关键词 棉铃虫; 抗药性; 淮北棉区

中图分类号 S435.622+.3 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2006)15-3733-03

萧县地处黄河流域棉区南端, 是安徽省老棉区, 棉铃虫是当地棉田的主要害虫, 以往由于不合理用药, 使棉铃虫产生抗药性, 成为棉花生产中的突出问题。1991~1994年笔者曾采用微量毛细管点滴法测定萧县棉铃虫的抗药性, 表明棉铃虫对溴氰菊酯、氰戊菊酯、顺式氰戊菊酯(来福灵)的抗性倍数, 以平均每年5倍左右的速度递增, 至1994年分别增至31.5、15.6、17.7倍, 均为中等抗性水平; 对灭多威1992年尚处敏感阶段, 至1994年, 敏感性下降, 但还没产生抗药性^[1]。为进一步掌握棉铃虫抗药性的发展状况, 1995年后, 笔者改用浸叶法开展棉铃虫的抗药性监测, 根据历年测定结果, 分

析抗性发展动态及其成因, 对科学开展抗性治理和改进测定方法均具有指导意义。

1 材料与方 法

1.1 试虫来源 于每年三代棉铃虫产卵盛期(7月下旬), 在萧县植保站病虫观测圃周围, 采集未施药非抗虫棉田中的棉铃虫卵, 带回室内养至2龄供测试。

1.2 供试药剂 10%氯氰菊酯乳油、4.5%高效氯氰菊酯乳油、20%灭多威乳油、90%灭多威水溶性粉剂、40%久效磷乳油、40%辛硫磷乳油, 均为市售商品, 如表1所示。

表1 历年测试药剂来源

| 药剂名称 | 测定年份 | 生产厂家 | 药剂商品名 | 生产年份 |
|--------|-----------|-----------------|--------------|------|
| 氯氰菊酯 | 1995、1996 | 美国FMC公司 | 10%安绿宝EC | 1995 |
| | 1997~1999 | 美国FMC公司 | 10%安绿宝EC | 1997 |
| 高效氯氰菊酯 | 2000、2001 | 南京红太阳集团 | 4.5%高效氯氰菊酯EC | 2000 |
| | 2002 | 江苏宜兴兴农化工制品有限公司 | 4.5%绿百事EC | 2002 |
| | 2003、2004 | 南京红太阳集团 | 4.5%高效氯氰菊酯EC | 2003 |
| | 2005 | 南京红太阳集团 | 4.5%高效氯氰菊酯EC | 2005 |
| 灭多威 | 1995、1996 | 山东剂宁化工实验厂 | 20%灭多威EC | 1995 |
| | 1997~1999 | 江苏建湖农药厂 | 20%灭多威EC | 1997 |
| | 2000~2003 | 美国杜邦公司 | 90%万灵SP | 2000 |
| | 2004、2005 | 美国杜邦公司 | 90%万灵SP | 2004 |
| 久效磷 | 1995、1996 | 山东青岛农药厂 | 40%久效磷EC | 1995 |
| | 1997~1999 | 山东青岛农药厂 | 40%久效磷EC | 1997 |
| 辛硫磷 | 2000、2001 | 南京红太阳集团 | 40%辛硫磷EC | 2000 |
| | 2002~2004 | 天津施普乐农药技术发展有限公司 | 40%辛硫磷EC | 2002 |
| | 2005 | 江苏连云港立本农药化工有限公司 | 40%辛硫磷EC | 2005 |

1.3 测定方法 采用国际抗性行动委员会(IRAC, 1990)推出的浸叶接虫法进行测定^[2-4]。先将药剂按等比级数用清水配成7个系列浓度, 以清水为空白对照, 测定后选死亡率在5%~95%的5个系列浓度进行计算, 不做预备试验。测定当天清晨, 在未施药的棉田内采集无病虫为害的鲜嫩棉叶带回室内, 用孔径与24孔细胞培养板孔径相同的打孔器将棉叶打成小园片, 将小园片依次按清水、低浓度至高浓度的顺序在配好的药剂中浸渍2~3s, 取出后放在吸水纸上晾干, 再放入滴过琼脂的培养板小孔中, 每孔放1片, 叶正面向上。然后用细毛笔将2龄棉铃虫幼虫轻轻挑入小孔中, 每孔1头, 每个浓度处理2块培养板, 即48头幼虫。培养板接虫后盖紧盖子, 置于温度25~30℃, 相对湿度(75±5)%的室内, 于处

理后48h观察记载死亡数, 以幼虫不能正常爬行为死亡。要求对照组死亡率10%以下, 用Abbott公式校正死亡率, 采用“DPS数据处理系统”软件在计算机上计算毒力回归式、LC₅₀等, 与基准毒力相比, 计算抗性指数。其中棉铃虫对氯氰菊酯、高效氯氰菊酯、灭多威、久效磷的基准毒力按吴益东等的测定结果^[4], 对辛硫磷的基准毒力按陈长琨等的测定结果^[5]。

2 结果与分析

2.1 棉铃虫抗药性监测结果及发展动态 1995~2005年对棉铃虫抗药性进行连续监测, 结果及发展动态如图1、表2所示。

2.1.1 对菊酯类的常用品种已普遍产生抗药性。 1994年用微量点滴法测定, 萧县棉铃虫对溴氰菊酯、氰戊菊酯、顺式氰戊菊酯(来福灵)均已产生中等抗性水平。1995~1999年用浸叶法测定, 棉铃虫对氯氰菊酯的抗性倍数在7~10倍, 平稳保持抵抗水平; 2000~2005年测定, 对高效氯氰菊

作者简介 韩道一(1951-), 男, 安徽巢湖人, 高级农艺师, 从事植物保护技术推广工作。

收稿日期 2006-06-02

酯的抗性倍数在 11 ~ 23 倍, 平稳保持中抗水平, 以 2003 年的抗性倍数最高, 近两年呈下降趋势。1995 年后抗性发展速度低于 20 世纪 90 年代前期^[1]。

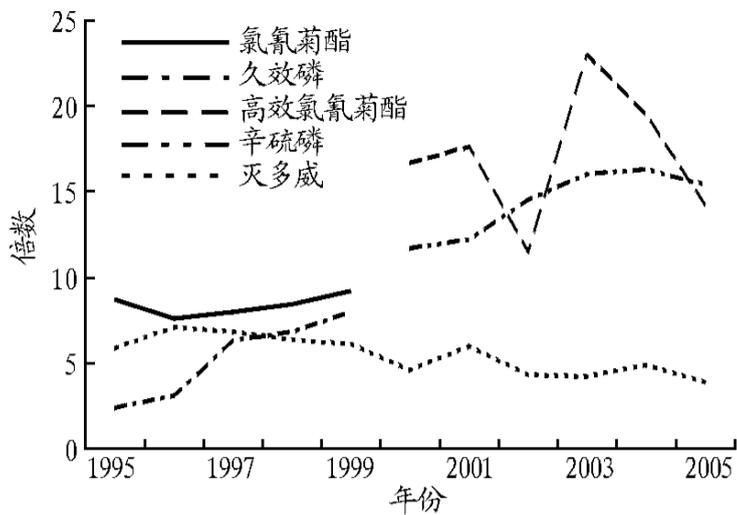


图1 萧县棉铃虫抗性倍数的发展

表2 历年棉铃虫抗药性结果

| 药剂 | 测定年份 | 毒力回归式 | LC ₅₀ nm/L | 抗性倍数/倍 |
|--------|------------------------|-------------------------|-----------------------|--------|
| 氯氰菊酯 | 基线 | $y = 4.1383 + 1.5626x$ | 3.5600 | 1 |
| | 1995 | $y = 2.8408 + 1.4479x$ | 30.8586 | 8.7 |
| | 1996 | $y = 3.5867 + 0.9853x$ | 27.1828 | 7.6 |
| | 1997 | $y = 3.5141 + 1.0217x$ | 28.4686 | 8.0 |
| | 1998 | $y = 3.4773 + 1.0329x$ | 29.7988 | 8.4 |
| | 1999 | $y = 3.3855 + 1.0650x$ | 32.8067 | 9.2 |
| 高效氯氰菊酯 | 2000 | $y = 2.9486 + 1.1565x$ | 59.3930 | 16.7 |
| | 2001 | $y = 3.0070 + 1.1089x$ | 62.7048 | 17.6 |
| | 2002 | $y = 3.0691 + 1.1991x$ | 40.7671 | 11.5 |
| | 2003 | $y = 2.7989 + 1.1504x$ | 81.9029 | 23.0 |
| | 2004 | $y = 2.7016 + 1.2489x$ | 69.2474 | 19.5 |
| | 2005 | $y = 2.7871 + 1.2997x$ | 50.4169 | 14.2 |
| 灭多威 | 基线 | $y = -0.3561 + 2.6901x$ | 97.9583 | 1 |
| | 1995 | $y = 1.2511 + 1.3509x$ | 573.5995 | 5.9 |
| | 1996 | $y = 0.6969 + 1.5135x$ | 696.7740 | 7.1 |
| | 1997 | $y = 1.4039 + 1.2724x$ | 670.3606 | 6.8 |
| | 1998 | $y = 1.5686 + 1.2270x$ | 625.9673 | 6.4 |
| | 1999 | $y = 1.6838 + 1.1939x$ | 599.2659 | 6.1 |
| | 2000 | $y = 2.2485 + 1.0380x$ | 447.5056 | 4.6 |
| | 2001 | $y = 2.4353 + 0.9258x$ | 589.1882 | 6.0 |
| | 2002 | $y = 1.9331 + 1.1670x$ | 424.7507 | 4.3 |
| | 2003 | $y = 1.5272 + 1.3286x$ | 411.0982 | 4.2 |
| 久效磷 | 基线 | $y = 2.0870 + 1.2542x$ | 210.1823 | 1 |
| | 1995 | $y = 0.6128 + 1.6242x$ | 502.5614 | 2.4 |
| | 1996 | $y = 1.6409 + 1.1928x$ | 654.7796 | 3.1 |
| | 1997 | $y = 1.7124 + 1.0540x$ | 1315.3751 | 6.3 |
| | 1998 | $y = 1.7100 + 1.0435x$ | 1422.1860 | 6.8 |
| | 1999 | $y = 1.6493 + 1.0395x$ | 1672.2504 | 8.0 |
| 辛硫磷 | 基线 | $y = -0.0775 + 2.3865x$ | 134.1560 | 1 |
| | 2000 | $y = 0.3610 + 1.4519x$ | 1566.9007 | 11.7 |
| | 2001 | $y = 1.1493 + 1.1985x$ | 1632.6325 | 12.2 |
| | 2002 | $y = 1.6041 + 1.0324x$ | 1946.2413 | 14.5 |
| | 2003 | $y = 1.5393 + 1.0385x$ | 2149.5200 | 16.0 |
| | 2004 | $y = 1.4752 + 1.0558x$ | 2180.5213 | 16.3 |
| 2005 | $y = 0.9548 + 1.2202x$ | 2066.7561 | 15.4 | |

2.1.2 对灭多威恢复至敏感性下降阶段。1995 ~ 2001 年, 抗性倍数比较平稳, 一直保持在 4.6 ~ 7.1 倍, 保持低抗水

平。2002 年以来, 抗性倍数降至 5 倍以下, 但还在 3 倍以上, 处敏感性下降阶段。

2.1.3 对有机磷类药剂的抗性水平在缓慢上升。1995 年棉铃虫对久效磷还处敏感阶段, 1996 年敏感性下降, 1997 年抗性倍数升至 6.3 倍, 达低抗水平, 以后缓慢递增, 至 1999 年升至 8.0 倍。2000 ~ 2005 年测定, 棉铃虫对辛硫磷的抗性倍数高于久效磷, 达 11.7 ~ 16.3 倍, 为中抗水平, 亦大致呈缓慢递增趋势, 2005 年的抗性倍数比 2004 年略有下降。

2.2 棉铃虫抗药性发展的原因

2.2.1 抗药性的发展与棉田用药密切相关。棉铃虫抗药性的产生和发展与药剂自身的抗性机理及其在棉田使用的历史、频率、剂量有关, 抗性水平和杀虫剂的用量成正相关, 抗药性的产生是化学杀虫剂定向选择的结果。据报道, 分别用菊酯类的氰戊菊酯、氨基甲酸酯类的灭多威、有机磷类的甲基对硫磷、辛硫磷选育棉铃虫 15、12、14、13 代, 棉铃虫的抗性倍数分别提高 311、10.8、3.5、5.2 倍^[6], 可见棉铃虫易对菊酯类药剂产生抗药性, 而对氨基甲酸酯类和有机磷类药剂产生抗性的速度较慢, 这是由于各类药剂的抗性机理不同造成的。氯氰菊酯于 20 世纪 90 年代初引进萧县使用, 尚未大面积推广开, 于 90 年代中期被高效氯氰菊酯取代, 以后高效氯氰菊酯成为该棉区使用最普遍、用量最大的菊酯类药剂, 因此棉铃虫对氯氰菊酯的抗性低, 而对高效氯氰菊酯的抗性较高。灭多威也是于 90 年代初开始在淮北棉区使用, 在 1992 ~ 1996 年棉铃虫暴发阶段, 棉田使用普遍, 使开始几年棉铃虫抗性发展较快, 以后由于价格等因素, 用量逐渐减少, 致使棉铃虫的抗性在 2002 年后呈下降趋势; 另外, 对菊酯类药剂产生抗性的棉铃虫种群, 对灭多威没有交互抗性^[7,8], 这也是棉铃虫对灭多威的抗性多年没有发展的一个原因。久效磷和辛硫磷是两个有机磷老品种, 从 20 世纪 80 年代初就开始在萧县使用, 80 年代久效磷在棉田用量较大, 辛硫磷主要用于地下害虫防治, 1992 年棉铃虫暴发后, 久效磷因对棉铃虫的防效不理想而逐渐不在棉田使用, 辛硫磷以其击倒力强、对高龄幼虫效果好等优点而被广泛用于棉铃虫防治, 许多混剂中也含有辛硫磷, 因此自 1995 年以来, 棉铃虫对辛硫磷的抗性高于久效磷。

2.2.2 抗药性与自身发生程度同步发展。从全国范围来讲, 近 40 年来, 棉铃虫的抗药性是伴随着种群数量大发生而来的。20 世纪 60 年代大发生时对有机氯杀虫剂 DDT 产生了抗性, 70 年代对有机磷杀虫剂一六〇五产生了抗药性, 90 年代的暴发出现了对菊酯类杀虫剂的抗药性, 3 次抗性都随种群数量的下降而下降^[9]。萧县棉铃虫抗药性的发展也有此规律, 虽然前两次没有监测数据, 但当时 DDT 和一六〇五的防效下降, 已足以说明棉铃虫对两种药剂产生了抗性。从监测结果可看出, 自 1997 年后, 随着棉铃虫种群数量的回落, 其对 3 种主要类型杀虫剂的抗性均趋于平稳, 并呈现下降趋势, 因此棉铃虫的抗药性与其发生程度之间有协同发展的关系。棉铃虫大发生时, 棉田施药次数增多, 如 1993 ~ 1995 年, 每年防治棉铃虫达 15 次以上, 田间选择压力增大, 导致抗性的快速发展, 棉铃虫种群数量回落后, 棉田本身用药减少; 1996 年以来每年防治棉铃虫的次数均在 6 次以下,

2001年后降至4次以下,减轻了选择压力,同时在棉铃虫暴发期间,一些新的药剂(如生物源农药)和防治措施(如种植转Bt基因抗虫棉)被开发推广,原来产生抗性的药剂因防效下降而逐渐停用,使抗性随之下降。另外,棉铃虫是具有兼性迁飞习性的害虫,当其大发生时,由于种群数量庞大而外迁,加剧不同区域种群的交流,使抗性种群与敏感种群的基因交流程度增大,从而影响抗性的发展^[10,11]。萧县处在黄河流域棉区南端,抗性水平低于冀、鲁、豫等北方棉区,在棉铃虫大发生期间,发生量也远低于北方棉区,因此不排除当时北方高抗种群迁入的可能,从而影响当地种群的抗药性。

2.2.3 转Bt基因抗虫棉的大面积种植对抗性的下降起到促进作用。2000年以来转Bt基因抗虫棉被迅速推广,现已成为主栽棉花品种,并且抗虫性逐渐改善,以前的常规棉在萧县几乎绝迹。抗虫棉对棉铃虫具有较强的抗虫性,尤其对当地的主害代(二、三代)更为显著,在棉铃虫偏重发生年份,二、三代基本不需施药防治,大幅度减少棉田的施药次数,如2001年二代棉铃虫百株累计卵量617.3粒,属大发生,在常规棉田需施药防治4次以上,而抗虫棉田不需施药。在日常测报调查中,很少在抗虫棉田查到棉铃虫幼虫,棉铃虫已不是转Bt基因抗虫棉田的主要害虫。抗虫棉的普遍种植,使大面积棉田的用药次数减少,降低了选择压力,棉铃虫敏感种群得以恢复,促进了对化学杀虫剂抗性水平的下降。

2.2.4 测试药剂对测定结果有一定影响。为增强抗性监测结果的可比性,减小误差,测试药剂应尽量保持一致,每年测定都尽可能地使用同一厂家、同一批次的产品,但由于时间跨度大,制剂长时间存放其理化性质和含量等会发生变化,因此每隔2~3年要更换1次测试药剂(表1)。测试药剂的更换,在一定程度上影响监测结果,造成年度间抗性的波动。如1999、2000年分别采用国产的20%灭多威乳油和进口的90%万灵(有效成分为灭多威)可溶性粉剂,两年测定的抗性倍数分别为6.1、4.6倍,抗性倍数降低的原因,除棉铃虫对灭多威抗药性下降外,也一定程度受到测定药剂

改变的影响;2002年棉铃虫对高效氯氰菊酯的抗性出现低谷,也与当年使用的药剂与前后两年不同有关。

3 讨论

化学农药的选择压、抗性与敏感种群的基因交流程度、抗性的遗传方式、抗性种群的适合度和稳定性是影响抗性演化的主要因子。用一种药剂在室内对棉铃虫连续筛选,其抗性呈Logistic增长,但在生产中情景就复杂得多,目前农村土地分散经营,一种药剂在棉田使用的时空随机性大,同一时间的用药呈镶嵌分布,如某一棉田施用的是菊酯类药剂,相临棉田施用的可能是其他类型的药剂,加上棉铃虫种群的自然交流,抗性种群和敏感种群相互稀释,使遗传基因交流频繁,这种状况不利于棉铃虫产生抗性,除非市场上农药品种单一,选择余地小,才会造成大面积连续使用某一种药剂,而近年农药市场活跃,新型药剂和复配剂种类繁多,这就造成棉铃虫抗性的发展不呈规律性增长或下降,年度间有一定波动,但总的来说,近10年棉铃虫的抗性呈现出稳中有降的趋势,这也说明连年的抗性治理取得了成效。

参考文献

- [1] 王向阳,宋爱颖,王月英,等. 萧县棉铃虫抗药性发展动态的初步探讨[J]. 植保技术与推广,1995(4):5-7.
- [2] 谭福杰. 农业害虫抗药性测定方法[J]. 南京农业大学学报,1987(4):108-122.
- [3] ANOM/MOUS. Proposed insecticide/acaricide susceptibility tests[J]. EPPO Bulletin, 1990(20):388-404.
- [4] 吴益东,沈晋良,陈进,等. 用点滴法和浸叶法监测棉铃虫抗药性的比较[J]. 植物保护,1996,22(5):3-6.
- [5] 陈长琨,李国清,卢丹,等. 新疆棉铃虫自然敏感种群对常用杀虫剂浸叶法的毒力基线[J]. 植物保护学报,2000,27(2):168-172.
- [6] 慕立义,王开运,刘峰,等. 棉铃虫抗药性调查和抗性规律的研究[J]. 农药,1995,34(6):6-9.
- [7] 谭建国,谭福杰,尤子平. 棉铃虫对拟除虫菊酯类杀虫剂的抗药性监测和抗性选择[J]. 南京农业大学学报,1987(4):36-41.
- [8] 范贤林,卢美光,赵永巧,等. 抗氰戊菊酯棉铃虫种群的抗性发展及交互抗性水平[J]. 植物保护,1996,22(4):24-26.
- [9] 王荫长,李国清. 我国棉铃虫的抗药性及其治理对策[J]. 植保技术与推广,1997,17(4):33-35.
- [10] 吴孔明,郭予元. 环渤海湾地区棉铃虫的抗药性水平及成因分析[J]. 植物保护学报,2000,27(2):173-178.
- [11] 郭予元. 棉铃虫的研究[M]. 北京:中国农业出版社,1998.