

化学杀虫剂复配及生物杀虫剂对济宁市淡色库蚊灭效的现场研究

宋晓^{1,2}, 程鹏¹, 吕晔源², 史琦琪^{1,2}, 刘宏美¹, 王海防¹, 刘丽娟¹, 郭秀霞¹, 张崇星¹,
赵玉强¹, 王怀位¹, 公茂庆¹

1 山东省医学科学院, 山东省寄生虫病防治研究所, 山东 济宁 272033;

2 济南大学, 山东省医学科学院医学与生命科学学院, 山东 济南 250022

摘要: **目的** 探讨常用化学杀虫剂复配以及生物杀虫剂对现场淡色库蚊的杀灭效果, 为制定合理有效的蚊虫防治措施提供科学依据。 **方法** 采用幼虫浸渍法及药物复配方法, 测试现场淡色库蚊对2种生物杀虫剂与4种化学杀虫剂的抗性及其增效系数。 **结果** 现场淡色库蚊对苏云金芽孢杆菌以色列亚种和球形芽孢杆菌的抗性倍数分别为1.02和1.08倍, 对氯氰菊酯、溴氰菊酯、敌敌畏和残杀威的抗性倍数分别为97.00、59.08、6.44和2.36倍, 溴氰菊酯+敌敌畏、溴氰菊酯+残杀威、氯氰菊酯+敌敌畏、氯氰菊酯+残杀威复配共毒系数分别为156.24~182.37、163.28~201.36、166.23~190.56和160.23~199.58, 敌敌畏+残杀威复配效果不佳。 **结论** 济宁市城区淡色库蚊对常用化学杀虫剂产生不同程度抗性, 对生物杀虫剂表现敏感, 建议采取生物杀虫剂或化学杀虫剂复配方式控制蚊虫孳生, 减缓抗药性发展。

关键词: 淡色库蚊; 生物杀虫剂; 杀虫剂复配; 抗药性

中图分类号: R384.1; S481⁺.4; S482.3 文献标志码: A 文章编号: 1003-8280(2019)03-0296-04

DOI: 10.11853/j.issn.1003.8280.2019.03.015

Efficacy of chemical insecticide mixture and biological insecticides against *Culex pipiens pallens* in Jining, China

SONG Xiao^{1,2}, CHENG Peng¹, LYU Ye-yuan¹, SHI Qi-qi^{1,2}, LIU Hong-mei¹, WANG Hai-fang¹, LIU Li-juan¹,
GUO Xiu-xia¹, ZHANG Chong-xing¹, ZHAO Yu-qiang¹, WANG Huai-wei¹, GONG Mao-qing¹

1 Shandong Academy of Medical Sciences, Shandong Institute of Parasitic Disease Prevention and Control, Jining 272033,
Shandong Province, China; 2 School of Medicine and Life Sciences, University of

Jinan-Shandong Academy of Medical Sciences

Corresponding author: GONG Mao-qing, Email: gmq2005@163.com

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81471985, 81672059, 81702034), and the Innovation Project of Shandong Academy of Medical Sciences

Abstract: Objective To explore the efficacy of a mixture of common chemical insecticides and biological insecticides against *Culex pipiens pallens*, and to provide a scientific basis for establishing reasonable and effective mosquito control measures. **Methods** The larval impregnation method and drug complex formulation method were applied to measure the resistance and synergistic coefficients of *Cx. pipiens pallens* against two biological insecticides and four chemical insecticides. **Results** The resistance coefficients of *Cx. pipiens pallens* against *Bacillus thuringiensis subsp. israelensis* and *B. sphaericus* were 1.02 and 1.08 times, respectively, and the resistance coefficients against cypermethrin, deltamethrin, DDVP, and propoxur were 97.00, 59.08, 6.44, and 2.36 times, respectively. The synergistic coefficient of deltamethrin + DDVP, deltamethrin + propoxur, cypermethrin + DDVP, and cypermethrin + propoxur were 156.24–182.37, 163.28–201.36, 166.23–190.56, and 160.23–199.58, respectively. The synergistic effect of DDVP + propoxur was not good. **Conclusion** *Culex pipiens pallens* in Jining city has developed varying degrees of resistance to common chemical insecticides, but is still sensitive to biological insecticides. It is suggested that biological insecticides or chemical insecticide mixtures be applied to control mosquito breeding and mitigate the development of insecticide resistance.

Key words: *Culex pipiens pallens*; Biological insecticide; Insecticide mixture; Insecticide resistance

基金项目: 国家自然科学基金(81471985, 81672059, 81702034); 山东省医学科学院医药卫生科技创新工程

作者简介: 宋晓, 女, 在读硕士, 主要从事媒介昆虫抗药性监测与治理工作, Email: 15020777096@163.com

通信作者: 公茂庆, Email: gmq2005@163.com

网络出版时间: 2019-04-23 16:05 网络出版地址: <http://navi.cnki.net/knavi/JournalDetail?pcode=CJFD&pykm=ZMSK>

蚊虫是重要寄生虫和病原体的主要载体,如疟原虫、班氏丝虫、登革热病毒、西尼罗病毒和寨卡病毒等,对人类造成很大威胁,导致了巨大的环境、经济和社会损失^[1-3]。由于缺乏有效的疫苗和药物,病媒生物控制主要依靠化学杀虫剂(简便、快速、经济)来减少蚊虫数量^[4]。但杀虫剂的持续、不规范使用导致了全国各地的抗药性不断增强,这使得媒介防治策略更具挑战性^[5]。目前,虽然多种不同种类的化学杀虫剂之间存在交互抗性,但国内有些研究报道杀虫剂的复配使用效果要优于单一使用。另外,生物杀虫剂作为一种绿色环保的媒介控制手段也越来越受到研究者的重视。其中,苏云金芽孢杆菌以色列亚种(*Bacillus thuringiensis*, *Bti*)与球形芽孢杆菌(*B. sphaericus*, *Bs*)是目前研究最深入、使用最广泛的灭蚊病原微生物。淡色库蚊(*Culex pipiens pallens*)作为流行性乙型脑炎和班氏丝虫病的主要传播媒介,在我国北方地区广泛分布,其孳生场所主要为中度污染的积水沟(如城市的污水池、下水道积水、建筑工地坑洼积水;农村的臭水沟)以及农村稻田^[6]。淡色库蚊是济宁市的优势蚊种,为科学合理使用化学杀虫剂,课题组采用*Bti*和*Bs*2种生物杀虫剂、多种化学杀虫剂单独以及复配方式,以济宁市城区的淡色库蚊幼虫为测试对象,开展敏感性测试,旨在了解淡色库蚊对生物杀虫剂的抗性水平以及对常用化学杀虫剂的抗性发展趋势,为进一步筛选理想杀虫剂、探讨更加有效的媒介防治措施提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 测试药剂 生物药剂*Bti*和*Bs*水分散颗粒剂,购自山东省鲁抗舍里乐药业有限公司,效价均为600 IU/mg。化学试剂敌敌畏(93%原油)、残杀威(96%原粉)、溴氰菊酯(98%原粉)、氯氰菊酯(95%原油)均由上海保康化工有限公司提供。

1.2 供试蚊虫 现场种群:使用采集网与采集勺于济宁市城区水体中采集淡色库蚊幼虫,立即将其带回实验室饲养至成蚊,用F1代3龄末4龄初幼虫进行测试。敏感品系:山东省寄生虫病防治研究所养蚊室内多年常规饲养的淡色库蚊正常品系3龄末4龄初幼虫。实验室温度(26±1)℃,相对湿度(60±5)%。

1.3 测试方法

1.3.1 生物测定法 采用幼虫浸渍法^[7],分别测试敏感品系以及济宁市各现场淡色库蚊幼虫对*Bti*、*Bs*、敌敌畏、残杀威、溴氰菊酯和氯氰菊酯6种杀虫剂的敏感性。随机选取25只蚊幼虫,置于已备好的盛有100 ml清水的塑料杯中,药剂浓度分别设置

5个梯度,观察并记录敏感与现场蚊幼虫接触*Bti*、*Bs*与各种化学杀虫剂24 h(*Bs*为48 h)后的死亡数,各浓度测试重复3次取其平均值。

1.3.2 毒力测试法 敌敌畏与残杀威之间的复配按1:1、1:2、1:3的比例进行配比,而溴氰菊酯、氯氰菊酯与残杀威、敌敌畏之间则按照1:1、1:3、1:5进行配比,每种混合药剂各设2组,重复测试3次,同时设置对照组,若对照死亡率>20%,则该实验组数据视为无效。

1.4 数据分析与评价标准 用概率单位法计算出各杀虫剂的半数致死浓度(LC₅₀)及其95%可信区间(95%CI)、回归方程以及抗性倍数。杀虫剂复配则计算共毒系数,共毒系数>100,说明2种杀虫剂有增效作用,若共毒系数<100,则二者存在拮抗作用。

1.5 抗性判定标准 抗性倍数≥20为高抗,10≤抗性倍数<20为中抗,2≤抗性倍数<10为低抗,抗性倍数<2为敏感。

2 结果

2.1 现场蚊虫抗药性测试结果分析 济宁市城区的淡色库蚊幼虫对4种化学杀虫剂均表现出不同程度的抗药性。其中,对氯氰菊酯的抗性最高,抗性倍数为97.00倍;对溴氰菊酯次之,抗性倍数为59.08倍;对敌敌畏与残杀威表现出较低抗性,抗性倍数分别为6.44和2.36倍;对生物杀虫剂*Bti*和*Bs*表现为敏感,抗性倍数分别为1.02和1.08倍,见表1。

表1 济宁市城区淡色库蚊幼虫对2种生物杀虫剂及4种常用化学杀虫剂的敏感性

Table 1 The susceptibility of *Culex pipiens pallens* larvae in Jining city to two biological insecticides and four common chemical insecticides

杀虫剂	LC ₅₀ 及其95%CI (mg/L)	回归方程 (y=a+bx)	抗性倍数
<i>Bti</i> (mg/L)	2.62(2.05~3.36)	4.251 8+1.785 2x	1.02
敏感品系	2.57(1.98~3.34)	4.311 2+1.678 0x	1.00
<i>Bs</i> (mg/L)	2.69(2.18~3.31)	4.046 4+2.219 1x	1.08
敏感品系	2.48(1.99~3.98)	4.187 5+2.055 7x	1.00
敌敌畏 (mg/L)	0.58(0.44~0.77)	5.332 0+1.407 3x	6.44
敏感品系	0.09(0.05~0.16)	6.000 6+0.962 2x	1.00
残杀威 (mg/L)	0.26(0.19~0.36)	5.894 8+1.538 8x	2.36
敏感品系	0.11(0.07~0.17)	6.243 3+1.299 6x	1.00
溴氰菊酯 (μg/L)	14.18(10.47~19.20)	3.409 7+1.381 0x	59.08
敏感品系	0.24(0.10~0.54)	5.446 6+0.717 2x	1.00
氯氰菊酯 (μg/L)	11.64(8.69~15.60)	3.597 6+1.315 5x	97.00
敏感品系	0.12(0.04~0.42)	5.354 9+0.389 7x	1.00

注:*Bti*: 苏云金芽孢杆菌以色列亚种; *Bs*: 球形芽孢杆菌

2.2 杀虫剂复配毒力效果分析 由表2可见,溴氰菊酯、氯氰菊酯分别与敌敌畏、残杀威复配效果较好,而敌敌畏与残杀威复配效果不理想。其

表 2 4 种常用化学杀虫剂复配对济宁市城区淡色库蚊幼虫的增效作用

Table 2 The synergistic effect of four common chemical insecticides on *Culex pipiens pallens* larvae in Jining city

复配杀虫剂	配比	LC ₅₀ (mg/L)	回归方程 (y=a+bx)	共毒 系数
溴氰菊酯+敌敌畏	1:1	0.03	11.385 2+5.460 8x	168.43
	1:3	0.08	10.246 7+4.034 2x	156.24
	1:5	0.11	9.597 3+4.065 3x	182.37
溴氰菊酯+残杀威	1:1	0.01	12.879 5+4.048 9x	201.36
	1:3	0.07	10.327 5+4.034 8x	163.28
	1:5	0.09	10.568 9+4.570 3x	178.69
敌敌畏+残杀威	1:1	0.84	5.327 6+3.216 5x	108.36
	1:2	0.76	5.563 9+4.675 3x	98.29
	1:3	0.61	5.710 7+3.468 3x	105.48
氯氰菊酯+敌敌畏	1:1	0.02	11.354 3+4.642 4x	166.23
	1:3	0.05	12.265 7+4.470 7x	190.56
	1:5	0.06	10.680 6+4.815 2x	180.45
氯氰菊酯+残杀威	1:1	0.02	12.356 2+4.502 6x	199.58
	1:3	0.04	10.238 4+4.124 3x	160.23
	1:5	0.06	10.687 5+4.612 7x	168.84

中,溴氰菊酯+残杀威、氯氰菊酯+残杀威增效作用最显著,共毒系数最高达 201.36 和 199.58,均为 1:1 配比;氯氰菊酯+敌敌畏复配杀虫效果次之,1:3 配比时共毒系数高达 190.56;溴氰菊酯+敌敌畏增效作用在 1:5 配比时较强,共毒系数为 182.37。敌敌畏+残杀威的共毒系数仅为 98.29~108.36。

3 讨 论

蚊虫抗药性监测是抗性治理工作的基础,也是预防抗性发生与发展的前提。敌敌畏、残杀威分别是有机磷类、氨基甲酸酯类杀虫剂的代表,溴氰菊酯、氯氰菊酯属于拟除虫菊酯类杀虫剂。测试结果表明,济宁市城区的淡色库蚊幼虫对 4 种常用化学杀虫剂均表现出不同程度的抗药性,其中对氯氰菊酯的抗性程度最高,溴氰菊酯次之,对敌敌畏、残杀威则表现出较低抗性,可能与近年来济宁市城乡居民以及农业生产中较多使用拟除虫菊酯类杀虫剂有关。自 20 世纪 80 年代以来,拟除虫菊酯类杀虫剂因低毒、高效、触杀作用迅速、不易残留、无熏蒸和内吸作用,在杀虫剂市场中占据主导地位,广泛应用于卫生害虫、农业害虫防治及粮食贮藏等,但菊酯类杀虫剂的频繁、不合理使用也促进了溴氰菊酯和氯氰菊酯的抗性发展。

不同类型杀虫剂一般作用机制不同,而作用机制不同的杀虫剂混用后可能会表现出明显的增效作用。拟除虫菊酯类杀虫剂主要作用于蚊虫神经膜的电压门控钠离子通道(voltage-gated sodium channel,

VGSC),可延迟钠离子通道活阀门的关闭而导致 VGSC 持续活化,扰乱蚊虫正常的生理过程,使之快速产生兴奋、痉挛、麻痹等中毒症状而死亡。抗性机制主要包括蚊虫靶标抗性或击倒抗性(knockdown resistance, *kdr*)以及细胞色素 P450 活性增高,可导致对杀虫剂的解毒代谢增强。有机磷类、氨基甲酸酯类杀虫剂对蚊虫的作用靶标主要是乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)。这两类杀虫剂可在蚊体内与胆碱酯酶形成磷酸化胆碱酯酶,使 AChE 不能分解乙酰胆碱而导致后者在组织中过量蓄积,使胆碱能神经过度兴奋,引起蚊虫中枢神经系统的严重障碍,从而达到灭蚊目的。当抗性倍数较高的氯氰菊酯、溴氰菊酯分别与低抗性的敌敌畏、残杀威复配后,对济宁市淡色库蚊幼虫有较好的杀灭效果。而当敌敌畏与残杀威复配使用时,不但不会起到增效作用,反而会减弱敌敌畏的灭蚊效果。这是因为氨基甲酸酯类杀虫剂与蚊体内 AChE 的 kd 值(解离常数)要小于有机磷类杀虫剂,前者对 AChE 的亲合力更大,则会抢先与 AChE 结合形成稳定复合物,使有机磷类杀虫剂难以与作用靶标结合而丧失杀虫作用,既往的研究报道也得出了相似的结论^[8-10]。在实际应用中,各地区应根据不同种类杀虫剂的作用机制,尽量采用机制不同的杀虫剂混合使用的方式进行防蚊、灭蚊,避免作用机制相同或相似的杀虫剂交叉使用。

济宁市现场淡色库蚊对 *Bti* 和 *Bs* 并没有表现出抗性,可能与该地区极少使用这 2 种生物杀虫剂有关。*Bti* 属于革兰阳性杆菌,在形成芽孢过程中产生一种形态各异的伴胞晶体,其可分泌由 *cry* 和 *cyt* 基因编码的具有杀虫活性的 δ -内毒素(δ -endotoxin),亦称为杀虫晶体蛋白(ICP)^[11-12]。*Bs* 是一种在自然界中广泛分布的好气芽孢杆菌,亚末端膨大形成孢子囊和球形芽孢,对不同蚊幼虫的毒杀作用主要是由其产生的两类毒素蛋白(晶体毒素蛋白、Mtx 毒素蛋白)实现的,产生的孢子和毒素可在蚊幼虫尸体中增殖,并可在幼虫栖息地内长期传播和保存^[13]。*Bti* 和 *Bs* 制剂施药方便、作用范围广、灭蚊选择性强,对非靶生物和人畜无毒性,在自然界中易降解不污染环境,能有效控制蚊虫的孳生,是公认的环境友好型杀虫剂^[14]。

综上所述,济宁市城区淡色库蚊幼虫对 4 种常用化学杀虫剂已产生不同程度的抗药性,因此,应控制单一杀虫剂的使用,尽量采取不同类型杀虫剂复配使用的方式来提高其毒力作用,并且充分利用生物杀虫剂的灭蚊优势来延缓蚊虫对化学杀虫剂抗药性的进一步发展。

参考文献

- [1] Guo JX, Ye WY, Liu XM, et al. piRNA-3312: a putative role for pyrethroid resistance in *Culex pipiens pallens* (Diptera: Culicidae) [J]. J Med Entomol, 2017, 54(4): 1013-1018. DOI: 10.1093/jme/tjx043.
- [2] 李文刚, 赵敏. 虫媒传染病流行现状[J]. 传染病信息, 2011, 24(1): 8-11. DOI: 10.3969/j.issn.1007-8134.2011.01.003.
- [3] Benelli G, Lo Iacono A, Canale A, et al. Mosquito vectors and the spread of cancer: an overlooked connection? [J]. Parasitol Res, 2016, 115(6): 2131-2137. DOI: 10.1007/s00436-016-5037-y.
- [4] Glunt KD, Abílio AP, Bassat Q, et al. Long-lasting insecticidal nets no longer effectively kill the highly resistant *Anopheles funestus* of southern Mozambique [J]. Malar J, 2015, 14: 298. DOI: 10.1186/s12936-015-0807-z.
- [5] 赖辉兵, 罗立旷, 欧庆华, 等. 云浮市首起报告登革热病例与蚊虫媒介监测结果分析[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2017, 28(2): 179-181. DOI: 10.11853/j.issn.1003.8280.2017.02.023.
- [6] Rašić G, Schama R, Powell R, et al. Contrasting genetic structure between mitochondrial and nuclear markers in the dengue fever mosquito from Rio de Janeiro: implications for vector control [J]. Evol Appl, 2015, 8(9): 901-915. DOI: 10.1111/eva.12301.
- [7] 刘维德. 蚊类抗药性及其测定[M]. 北京: 科学出版社, 1979: 53.
- [8] 王新国, 王怀位, 甄天民, 等. 山东省淡色库蚊抗药性及现场治理方法的研究[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2004, 15(1): 25-26. DOI: 10.3969/j.issn.1003-4692.2004.01.009.
- [9] 王新国, 甄天民, 王怀位, 等. 复配杀虫剂杀灭淡色库蚊的现场效果研究[J]. 中华卫生杀虫药械, 2003, 9(3): 33-35. DOI: 10.3969/j.issn.1671-2781.2003.03.013.
- [10] 黄晓丹, 赵久旭, 寇景轩, 等. 山东省东平湖地区淡色库蚊对常用杀虫剂的抗药性调查[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2013, 24(5): 406-408. DOI: 10.11853/j.issn.1003.4692.2013.05.007.
- [11] Ibrahim MA, Griko N, Junker M, et al. *Bacillus thuringiensis*: a genomics and proteomics perspective [J]. Bioeng Bugs, 2010, 1(1): 31-50. DOI: 10.4161/bbug.1.1.10519.
- [12] 关鹏, 秦培钢, 代小娟, 等. 苏云金芽胞杆菌 *cyt2Ba16* 基因的克隆表达[J]. 生物技术, 2018, 28(2): 119-123.
- [13] Schlein Y, Muller GC. Decrease of larval and subsequent adult *Anopheles sergentii* populations following feeding of adult mosquitoes from *Bacillus sphaericus*-containing attractive sugar baits [J]. Parasit Vectors, 2015, 8: 244. DOI: 10.1186/s13071-015-0845-y.
- [14] Regis L, da Silva SB, Melo-Santos MAV. The use of bacterial larvicides in mosquito and black fly control programmes in Brazil [J]. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2000, 95 Suppl 1: S207-210. DOI: 10.1590/S0074-02762000000700035.
- 收稿日期: 2019-02-13 (编辑: 陈秀丽)
-
- (上接第 280 页)
- [4] 中华人民共和国卫生部. WS 278-2008 流行性出血热诊断标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [5] 王芹, 曲靓, 张全福, 等. 2013 年全国肾综合征出血热疫情及监测分析[J]. 疾病监测, 2015, 30(6): 440-447. DOI: 10.3784/j.issn.1003-9961.2015.06.004.
- [6] 周博, 吴旭, 刘成模, 等. 沈阳市 2002—2014 年人居环境鼠类监测分析[J]. 中华卫生杀虫药械, 2016, 22(3): 274-277.
- [7] 邱兆海, 赵贺春, 程志勇. 1992—2009 年吉林市流行性出血热疫情分析[J]. 中国卫生工程学, 2011, 10(2): 156-157.
- [8] 李宏, 洪荣涛, 黄文龙, 等. 2004—2007 年福建省流行性出血热流行特征分析[J]. 中国人兽共患病学报, 2009, 25(1): 59-62. DOI: 10.3969/j.issn.1002-2694.2009.01.016.
- [9] 蔡春林, 陈戊申, 陈伟红, 等. 深圳地区流行性出血热疫点鼠类汉坦病毒血清学调查研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27(1): 127-128.
- [10] 李能就, 叶双岚, 陈昌明, 等. 2013—2016 年广州市白云区流行性出血热流行特征分析[J]. 中华卫生杀虫药械, 2018, 24(3): 267-269.
- [11] 余向华, 曾士典, 张孝和, 等. 浙江南部沿海地区鼠传疾病流行趋势分析[J]. 疾病监测, 2014, 29(5): 391-394. DOI: 10.3784/j.issn.1003-9961.2014.05.014.
- [12] 王政, 徐中玉, 孙良, 等. 安徽颍上县 2010—2015 肾综合征出血热监测结果分析[J]. 疾病监测与控制, 2016, 10(6): 439-441.
- [13] 郭京晓, 张静, 陈露菲, 等. 黑龙江省肾综合征出血热疫区型别演变研究[J]. 中国初级卫生保健, 2009, 23(8): 74-75. DOI: 10.3969/j.issn.1001-568X.2009.08.037.
- [14] 王芹, 周航, 李德新, 等. 2009 年中国肾综合征出血热监测分析[J]. 疾病监测, 2010, 25(12): 938-943. DOI: 10.3784/j.issn.1003-9961.2010.12.004.
- [15] 华华, 陈淑红, 杨明, 等. 2007—2016 年黑龙江省肾综合征出血热疫情分析[J]. 现代预防医学, 2017, 44(22): 4033-4035, 4041.
- [16] 王妍, 魏亚梅, 韩旭, 等. 河北省肾综合征出血热疫区鼠类构成及其携带汉坦病毒调查[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2017, 28(6): 553-556. DOI: 10.11853/j.issn.1003.8280.2017.06.009.
- 收稿日期: 2018-12-17 (编辑: 卢亮平)