褐飞虱对吡虫啉抗性监测方法的研究*

刘泽文 张玲春 韩召军 董 钊

(南京农业大学,农业部病虫监测与治理基础实验室 南京 210095)

A method for monitoring of Imidacloprid resistance in brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. LIU Ze-Wen, ZHANG Ling-Chun, HAN Zhao-Jun, DONG Zhao(*Key Laboratory of Monitoring and Management of Plant Disease and Insects*, *Ministry of Agriculture*, *Nanjing Agricultural University*, Nanjing 210095, China)

Abstract Based on the precision and accuracy of monitoring results and convenience of operation, the root dipping method was used to detect resistance to Imidacloprid in the BPH. Compared with other monitoring methods mentioned in this paper, this method had the advantages of the simplicity, convenience and precision. Using this method, the base-line of susceptibility was established in females, males and different larval instars. The results of resistance monitoring in BPHs in Guilin, Anqing and Dongtai showed that these populations had developed low level resistance to Imidacloprid therein all three areas, and that the resistance of BPHs in Anqing and Dongtai was a little higher than that in Guilin.

Key words *Nilaparvata lugens* Stål, Imidacloprid, the method of root dipping

摘 要 从结果的稳定性、准确性和操作方便等角度出发,建立了适合于监测褐飞虱(*Nilaparvata lugens* Stål)对吡虫啉抗性的稻苗浸根法。与其他方法相比,该方法除具有简单易行的特点外,还表现出很好的监测准确性。通过建立不同虫态和不同若虫龄期敏感基线以及对桂林、安庆、东台3个地区的抗性监测,发现3地褐飞虱对吡虫啉都处于敏感性下降阶段,安庆和东台地区的敏感性弱低于桂林。

关键词 褐飞虱,吡虫啉,稻苗浸根法

褐飞虱 *Nilaparvata lugens* Stål(brown planthopper, BPH)是危害水稻最严重的害虫之一,长期以来国内外对褐飞虱的防治主要是以化学防治为主[1],亚洲不少国家和地区的褐飞虱对大量的有机氯、有机磷、氨基甲酸酯中常用杀虫剂产生了抗药性[2~4]。20世纪80年代以来,生产上大量使用噻嗪酮来防治褐飞虱,但该药存在着药效慢、对成虫和卵杀虫效果差的局限[5]。20世纪90年代以来,由于吡虫啉对稻飞虱具有卓越的控制作用,成为目前使用最多的防治药剂[6]。而正因为对飞虱效果很好,在生产上存在着单一使用、滥用的不良状况,而且目前已经监测到几种害虫对吡虫啉的抗药性[7],所以褐飞虱也存在对吡虫啉产生抗性的可能性。褐飞虱是一种迁飞性害虫,要全面了解其对吡虫啉的抗性,就必须大范围进行抗药性监测,所以简单易行、人力要求少的监测方法十分重要。吡虫啉是一种内吸性杀虫剂,水稻根对其吸收能力很强[8,9],作者就是利用这一特点对褐飞虱对吡虫啉的抗性监测方法,即稻苗浸根法进行了研究。

1 试虫、供试稻苗和药剂

1.1 敏感品系(S)

江苏省农业科学院多年室内不接触农药条件下饲养的品系,2000年4月采回后继续在不接触农药条件下饲养。

1.2 田间种群1(F1)

2000年7月采集于江苏省江浦县,在室内饲养繁殖。(文中除特别说明外,均指该品系。)

1.3 田间种群2(F2)

2001年8月采集于广西桂林。

1.4 稻苗

* 国家重点基础研究项目资助(J20000162)。

收稿日期:2001-11-19,修回日期:2002-03-07

(28 ±1) ℃,16/8(白天/黑夜)条件下无土培育的秧苗,12 ±1 cm。

1.5 药剂

97 %吡虫啉原药由红太阳集团提供,用 Triton X-100 乳化配制成水溶液,供浸苗、浸根和喷雾用;用丙酮稀释,供点滴用。

2 稻苗浸根法的基本操作

取 30 根左右的秧苗,用水清洗根部后阴干。在培养杯(口直径 7 cm,底直径 6 cm,高 11 cm)中倒入药液至 1.8 cm。将一块圆形海绵(直径 5 cm、厚 2 cm)沿直径剪开 4 cm,然后用海绵夹住 25 根秧苗的根茎,再将海绵嵌入一个事先已经在一次性塑料杯(口直径 7.5 cm,底直径 5 cm,高 13 cm)底部剪好的中心圆孔(直径 3 cm)中,使秧苗茎叶部分全部在一次性塑料杯中,再将一次性塑料杯底部朝下插入培养杯中,使苗根全部浸在药液中。然后往每个一次性杯中接入 25 头试虫,用纱布封口,放在(28 ± 1) ℃。16/8(白天/黑夜)条件下,经过一定时间后检查死亡率。

3 检查死亡率时间的确定

表 1 不同虫态和龄期用药处理后不同时间的死亡率(%)

Table 1 The mortality of different CT at different stages and instars

虫态 Stage	检查结果时间 CT				
	12 h	1 d	2 d	3 d	4 d
2 龄若虫 2nd instar	4.9	10.6	19.8	33.7	39.2
3 龄若虫 3rd instar	3.1	14.6	24.3	39.5	41.8
4 龄若虫 4th instar	9.7	20.4	31.7	56.3	56.3
5 龄若虫 5th instar	2.5	11.4	27.7	59.9	61.7
长翅型雌成虫 Macropterous female	6.4	9.1	20.4	43.4	45.5
短翅型雌成虫 Micropterous female	10.2	15.7	29.5	47.6	51.2
长翅型雄成虫 Macropterous male	13.4	24.9	37.4	64.5	67.0
短翅型雄成虫 Micropterous male	7.9	19.4	49.2	71.4	77.9

注:表格中的数据指用浓度 0.2 mg/kg 浸根处理各虫态的校正死亡率(%)。Note: the data in the above table is the correct mortality using the concentration of 0.2 mg/kg(%).

通过预备实验,选定浓度 0.2 mg/kg,用于确定检查死亡率时间(the checking time, CT)。从表 1 可以看出,除了 2 龄若虫和短翅型雌、雄成虫的死亡率在浸根处理后的第 4 d 还有一定的上升外,其它各个虫态的死亡率在第 4 d 都只有微弱上升,基本上在第 3 d 就稳定下来,即第 3 d 达到药剂处理急性毒性的最大死亡率。由此可见,浸根处理后的第 3 d 是吡虫啉充分发挥直接毒杀作用的开始时间,所以可以选定第 3 d 作为吡虫啉浸根处理检查结果的时间。

4 不同虫态和不同若虫龄期敏感基线的测定

表 2 褐飞虱不同虫态和不同若虫龄期对吡虫啉敏感基线的测定

Table 2 The relative susceptible base-line of different stages and different instars of BPH to Imidacloprid

	回归曲线 LD-p line	LC_{50} (mg/kg)
2 龄若虫 2nd instar	$y = 3.1313x + 9.1266$	0.0481 a
3 龄若虫 3rd instar	$y = 3.4053x + 9.6262$	0.0438 ab
长翅型雌成虫 Macropterous female	$y = 3.6147x + 9.9991$	0.414 ab
短翅型雌成虫 Micropterous female	$y = 3.3273x + 9.6769$	0.0393 bc
4 龄若虫 4th instar	$y = 3.9563x + 10.6416$	0.0375bcd
5 龄若虫 5th instar	$y = 3.2328x + 9.6711$	0.0359 cd
长翅型雄成虫 Macropterous male	$y = 3.0879x + 9.5151$	0.0345 cd
短翅型雄成虫 Micropterous male	$y = 2.9474x + 9.4180$	0.0317 d

注:致死中浓度栏中的字母用来表示显著性差异比较结果,相同字母表示 0.05 水平上差异不显著,不同字母表示差异显著。Note: the letters in the column of LC_{50} showed the results of comparing LC_{50}, the same letter indicated that there was not magnificent difference at 0.05 level between the LC_{50}, the different letters indicated the there was magnificent difference.

实验发现,用稻苗浸根法测定吡虫啉对褐飞虱敏感种群各虫态的毒力时,都表现出很好的测定效果。从 b 值的角度考察,除了短翅型雄成虫测定结果的 b 值小于 3(2.9474)外,其它

几种若虫和成虫测定结果的 b 值都在 3 以上,说明这种测定方法很好地反映了敏感种群的敏感性。从毒力测定结果来看,用稻苗浸根法处理,吡虫啉对 2 龄若虫、3 龄若虫、长翅型雌成虫、短翅型雌成虫、4 龄若虫、5 龄若虫、长翅型雄成虫、短翅型雄成虫的毒力依次增大。2 龄若虫与除 3 龄若虫、长翅型雌虫以外的各虫态存在显著差异;4 龄若虫仅与 2 龄若虫存在显著差异,与其它虫态和龄期都不存在显著差异;而长翅型雌虫也只有与 2 龄若虫和长翅型雄虫存在显著差异。

5 与其他方法比较

为了检验稻苗浸根法对褐飞虱对吡虫啉抗性的监测效果,作者用 4 龄若虫对该方法与点滴法、浸苗法和喷雾法等 3 种经典监测方法对 2 个田间品系的监测结果进行了对比分析。从表 3 可以看出,在对田间品系 1 监测时,浸根法与其它 3 种方法监测的结果之间都不存在差异,仅仅点滴法与喷雾法间存在 0.05 水平上的差异;对田间品系 2 监测结果同样表明,浸根法与其它 3 种方法均不存在差异,并且所有 4 种方法之间都表现出很好的一致性。与经典的点滴法、浸苗法和喷雾法之间很好的一致性,说明了浸根法来监测褐飞虱对吡虫啉的抗性在准确程度上是完全可行的。

表 3 稻苗浸根法与其他方法测定结果的比较(4 龄若虫)

Table 3 The comparison between the root dipping and other methods(4th instar)

方法 Method	敏感品系 S	田间品系 1 F1	抗性倍数 RR_1	田间品系 2 F2	抗性倍数 RR_2
点滴法 Topical treatment	0.4274	1.9404	4.54 a	2.5131	5.88 a
浸根法 Root dipping	0.0375	0.1845	4.92 ab	0.2351	6.27 a
浸苗法 Seedling dipping	0.1095	0.576	5.27 ab	0.7071	6.46 a
喷雾法 Spraying	0.776	4.272	5.51 b	5.0403	6.58 a

注:点滴法测定的为 LD_{50} 值,单位是 10^{-4} μg/头;其它 3 种方法测定的为 LC_{50} 值,单位是 mg/kg;字母表示 0.05 水平上的差异性比较。

Note: the result of topical treatment is LD_{50} value, the unit is 10^{-4} μg/female; the results of other methods are LC_{50} value, the unit is mg/kg, the letters in the table showed the results of comparing the insecticide resistance ratios at 0.05 level.

6 桂林、安庆和东台地区褐飞虱对吡虫啉敏感性的测定

用浸根法对桂林、安庆和东台 3 个地区褐飞虱对吡虫啉的敏感性进行了测定。结果表明,3 地褐飞虱对吡虫啉仍然比较敏感,均处在敏感性下降阶段。对比几个地区的测定结果,发现安庆地区和东台地区褐飞虱的敏感性较桂林地区低,在 0.05 水平上存在显著差异(表 4)。

表 4 东台、安庆和桂林地区褐飞虱对吡虫啉敏感性(4 龄若虫)

Table 4 Susceptibility of BPH collected from Dongtai, Anqing and Guilin to Imidacloprid

品系 Strains	回归曲线 LD-p line	LC_{50} (mg/kg)	抗性倍数 (RR)
敏感品系 Susceptible strain	$y = 3.9563x + 10.6416$	0.0375	1.00
桂林地区 Guilin	$y = 2.8406x + 6.7860$	0.2351 a	5.88
安庆地区 Anqing	$y = 2.3137x + 6.1312$	0.3244 b	8.65
东台地区 Dongtai	$y = 2.3824x + 6.2535$	0.2976 b	7.94

7 讨论

自从 1991 年吡虫啉正式问世以来,由于其对刺吸式口器害虫具有十分突出的防效,而且市场价位低,受到广大农民的青睐,所以在世界范围内得到广泛的应用。然而,桃蚜、灰飞虱、花蓟马、马铃薯甲虫等对吡虫啉抗性的产

生[7,10],也充分预示着褐飞虱对吡虫啉产生抗性的可能性。为了解当前褐飞虱对吡虫啉敏感性的变化,大范围内的抗性监测则势在必行。通过对稻苗根部对吡虫啉非常好的吸收能力的研究[8,9],作者建立了适合监测褐飞虱对吡虫啉抗性的稻苗浸根法。

通过对褐飞虱各个虫态用药处理后 12 h,1,2,3 和 4 d 累积死亡率的观察,发现各虫态的死亡高峰出现在用药后的第 3 d,第 4 d 与第 3 d 相比没有显著的上升,所以选定用药后的第 3 d 作为浸根处理的结果检查时间。用稻苗浸根法测定褐飞虱各个虫态对吡虫啉的敏感基线,较大的 b 值和 R^2 值充分说明了监测结果的准确性。比较吡虫啉对不同虫态毒力的差异,发现毒力大小并不与体重成正比关系,对 2 龄若虫的毒力最小,这可能与不同虫态取食量的差异有关。

用经典的抗药性监测方法来检验稻苗浸根法的准确性,如点滴法、浸苗法和喷雾法等,发现稻苗浸根法与其它方法存在十分高的一致性,说明稻苗浸根法的监测准确性。从稻苗浸根法的操作中可以看出,该方法不用对试虫进行麻醉,不必用点滴器将药剂直接点滴在试虫的体表,减少了对试虫的人为损伤,提高了实验的准确性;吡虫啉的根吸收能力比茎吸收能力强,通过根吸收作用于试虫的时间快、并且可以在接虫后继续浸根,可以减少浸茎法中可能存在的相同浓度药剂吸收不同的缺点;喷雾法是一种相对较粗放的方法,可能在操作中出现未接触或较少接触药剂的试虫存在,造成结果的不稳定和不准确,而相同试虫取食基本相同的特性减少了这种不稳定性和不准确性。从方法的简易方面来看,稻苗浸根法减少了点滴法的麻醉、点滴过程,减少了浸茎法的分蘖期水稻培育、剪茎和浸茎过程,减少了喷雾法中处理后的试虫转移过程,简化了实验操作步骤,降低了实验的难度,提高了实验的可操作程度,具有一定生测水平的工作人员都可以用该方法监测褐飞虱对吡虫啉的抗性。正因为稻苗浸根法的监测准确性和简单易行的特点,使得该方法可以在全国大范围内开展,为大尺度监测褐飞虱对吡虫啉的抗性提供了方法上的保障。

在建立稻苗浸根法和确定其可行性后,用该方法对我国广西桂林、安徽安庆和江苏东台 3 地区褐飞虱对吡虫啉的敏感性进行了监测,发现 3 地区都处于敏感性下降阶段,安庆地区和东台地区的敏感性均较桂林地区低。虽然在我国褐飞虱对吡虫啉的抗性都很低,但与敏感种群的差异以及南北地区间的差异,都显示出该药剂的使用可能会导致褐飞虱抗药性的产生,因此在飞虱防治过程中也应当谨慎使用。与噻嗪酮及其它药剂的轮用、混合使用,降低吡虫啉的用量和使用频次,对减缓褐飞虱对该药抗性的产生和延长其使用寿命都是很好的方法。

参 考 文 献

1 Nagata T. *Bull. Kyushu. Nation. Agri. Exp. Station*, 1982, **22**(1):49 ~ 164.

2 Nagata T., Masuda T., Moriya S. *Appl. Ent. Zool.*, 1979, **14**(3):264 ~ 269.

3 潘道一,董成森,张铁山.农药,1985,**2**:33 ~ 35.

4 高辉华,王荫长,谭福杰,尤子平.南京农业大学学报,1987,**4**(增):65 ~ 71.

5 Asai T., Fukada M., Maekawa S., Ikeda K., Kanno H. *Appl. Ent. Zool.*, 1983, **18**(4):550 ~ 552.

6 邱光,顾正远,肖英方.江苏农业科学,1994,**78**(2):39 ~ 41.

7 张彦英,张弘.农药,1999,**38**(4):22 ~ 23.

8 顾正远,刘贤金,韩丽娟,肖英方.西南农业大学学报,1998,**20**(5):397 ~ 400.

9 邱光,顾正远,刘贤金,肖英方.华东昆虫学报,1997,**6**(2):79 ~ 84.

10 Zhao G., Liu W., Brown J. M., Knowles C. O. *J. Econ. Entomol.*, 1995, **88**:1 164 ~ 1 170.