

甲氧虫酰肼对棉铃虫生长发育的亚致死效应研究^{*}

任 龙^{**} 谭晓伟 徐希宝 芮昌辉^{***}

(中国农业科学院植物保护研究所 农业部作物有害生物综合治理重点实验室 北京 100193)

摘 要 以一个对甲氧虫酰肼具有 18.5 倍抗性的棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Hübner) 种群(R) 和其同源对照种群(S) 为对象, 研究了甲氧虫酰肼对棉铃虫生长发育的亚致死效应。结果表明, 甲氧虫酰肼亚致死剂量(LC₂₅) 处理 R 和 S 种群的 3 龄初幼虫, 对 S 种群幼虫的生长抑制率(37.30%) 显著大于 R 种群(21.20%)。与空白对照处理相比, 致死剂量处理 R 和 S 种群后, 均表现出生长发育延缓, 蛹期延长, 化蛹率、羽化率、卵孵化率降低, 且对 S 种群的影响更明显。研究结果表明亚致死剂量的甲氧虫酰肼对棉铃虫存在一定的不利影响, 但对甲氧虫酰肼具有一定抗性的棉铃虫种群能够减轻这种不利影响。

关键词 甲氧虫酰肼, 棉铃虫, 亚致死剂量, 生物学特性

Sublethal effects of methoxyfenozide on the growth and development of *Helicoverpa armigera*

REN Long^{**} TAN Xiao-Wei XU Xi-Bao RUI Chang-Hui^{***}

(Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Integrated Pest Management in Crops, Ministry of Agriculture, Beijing 100193, China)

Abstract A methoxyfenozide-resistant population (R, 18.5-fold resistance) of the cotton bollworm (CBW), *Helicoverpa armigera* (Hübner) and a homologous control population (S) were used to evaluate the sublethal effects of methoxyfenozide on this insect pest. The results indicate that a sublethal dose of methoxyfenozide (LC₂₅) significantly inhibited the growth of 3rd instar larvae of the S by 37.30%, compared to 21.20% in the resistant population. A sublethal dose retarded CBW growth, prolonged the pupal period and reduced the pupation, emergence and hatching rates of both populations, but especially the S. The results suggest that sublethal doses of emamectin benzoate have negative effects on the growth and development of *H. armigera*, but resistant populations have reduced negative effects.

Key words methoxyfenozide, *Helicoverpa armigera*, sublethal dose, biological performance

杀虫剂施用于田间后, 除了对昆虫的直接杀死作用外, 随着个体接触药量的差异以及时间的推移, 对存活个体的生物学、生态行为、生殖力、抗药性等方面都会产生不同程度的影响, 即农药对害虫可能存在亚致死效应 (Singh and Marwaha, 2000; Desneux *et al.*, 2004; Cutler *et al.*, 2006)。甲氧虫酰肼 (methoxyfenozide, RH-2485) 是由罗姆-哈斯公司 (Rohm-Hass) 开发的新型酰基肼类杀虫剂, 模拟蜕皮激素的功能, 通过作用于蜕皮激素受体而导致昆虫致死性蜕皮 (Carlson *et al.*,

2001; Saenz-de-Cabezón *et al.*, 2005)。该药剂对鳞翅目昆虫具有高度的选择毒性, 并且对环境和非靶标生物安全, 已经成为替代有机磷和拟除虫菊酯类杀虫剂防治棉花、玉米、蔬菜及其它农作物上多种鳞翅目害虫的理想品种 (朱丽梅, 2001; 李照民等, 2002; 顾秀慧等, 2004)。蜕皮激素类杀虫剂对鳞翅目昆虫毒理学研究中, 主要侧重于该类害虫对其抗性机理的研究 (王建军等, 2009; 刘娟等, 2011) 和单一种群的亚致死效应 (王建军等, 2009; 张天澍等, 2010), 而对不同抗性水平种群害虫亚

^{*} 资助项目: “十一五” 国家科技支撑计划 (2006BAD08A03) 和公益性行业 (农业) 科研专项 (200903033)。

^{**} E-mail: zhongguo_long@126.com

^{***} 通讯作者, E-mail: chrui@ippcaas.cn

收稿日期: 2012-02-06, 接受日期: 2012-02-28

致死效应的研究相对欠缺。因此本研究选取甲氧虫酰肼为药剂,研究其在亚致死剂量下,对棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 抗性种群(R)和同源对照种群(S)生长发育等生物学特性差异,旨在明确该药剂对棉铃虫种群动态的影响,为棉铃虫的抗药性治理和甲氧虫酰肼的合理应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试药剂和试剂

98.2% 甲氧虫酰肼(methoxyfenozide)原药,美国陶氏益农公司,0.1% 曲拉通水溶液。

1.2 供试虫源

棉铃虫初始虫源于 2005 年采自河北省冀州市棉田的成虫。棉铃虫对甲氧虫酰肼的抗性种群(R):室内用甲氧虫酰肼继代处理棉铃虫 2 龄幼虫,获得的抗性种群对甲氧虫酰肼的抗性倍数为 18.5 倍,棉铃虫抗性选育的具体方法见刘娟等(2009)。同源对照种群(S):在室内不接触任何农药进行正常饲养的种群,参照范贤林等(2003)的方法饲养。饲养条件:温度(26 ± 1)℃、相对湿度 60%~80%、光周期 L:D = 16:8,光照强度为 2 000~3 000 lx。

1.3 甲氧虫酰肼亚致死剂量的测定

采用叶片药膜法。甲氧虫酰肼原药先用二甲基甲酰胺(DMF)配制成 1% 的母液,再用 0.1% 曲拉通水溶液将母液稀释成系列测定浓度,对照种群的药液测定浓度为:5、10、20、30、40、50 $\mu\text{g/mL}$,抗性种群的药液测定浓度为:100、150、200、300、400、500 $\mu\text{g/mL}$ 。以 0.1% 曲拉通水溶液作为空白对照。将新鲜棉花叶片洗净晾干,用打孔器打成大小一致的叶碟,在药液中浸渍 10 s,室温晾干,然后放入 10 孔盒中并进行相应的标记。选取大小一致的 3 龄初幼虫接入 10 孔盒,每孔 1 头。每个处理 3 次重复,每个重复 10 头幼虫。48 h 后检查死亡率,虫体变小严重发黑、表皮畸形、针刺没有反应或不能协调运动的试虫为死亡。数据用 DPS 软件处理,分别计算 2 个种群的 LC_{25} 。

根据所求得的 2 种群的 LC_{25} 值,配制相应的亚致死剂量的药液,使用上述处理方法,每个处理 10 个重复,每个重复 10 头幼虫,48 h 后检查结果并计算校正死亡率。对上述求得的 LC_{25} 值进行验证,以该 LC_{25} 值作为甲氧虫酰肼的亚致死剂量。

1.4 甲氧虫酰肼亚致死剂量对棉铃虫幼虫生长抑制率的测定

参照徐世才等(2008)方法,以甲氧虫酰肼亚致死剂量分别处理抗性和对照种群 3 龄初(1 d 龄 3 龄幼虫),处理方法同 1.3。每个处理 5 个重复,每个重复 10 头幼虫。处理前后,称量并记录每头试虫体重。设不用药处理空白对照。计算亚致死剂量对幼虫的生长抑制率。

生长抑制率 = (空白对照处理幼虫生长量 - LC_{25} 处理幼虫生长量) / 空白对照处理幼虫生长量 $\times 100$ 。

1.5 甲氧虫酰肼亚致死剂量对棉铃虫生物学因子的影响

1.5.1 对棉铃虫各虫态历期的影响 用甲氧虫酰肼亚致死剂量分别处理抗性和对照种群,处理方法同 1.3,每个处理 200 头 3 龄幼虫。处理 48 h 后,将剩余活虫接入盛有无毒新鲜人工饲料的 10 孔盒中饲养,每孔 1 头,直至化蛹。待羽化后,每个处理设置 5 个重复,每个重复随机选取 5 对交配成功的成虫,单对放置于 1 000 mL 烧杯中,供以 10% 的蜂蜜水,直至死亡。观察记录幼虫历期,蛹期,雌、雄成虫比例及寿命,产卵前期,产卵期,孵化期。

1.5.2 对棉铃虫生长发育和成虫繁殖的影响

观察上述经过处理并转入饲料的棉铃虫,每天记录幼虫存活情况,直至化蛹,观察并记录化蛹数,畸蛹数。幼虫化蛹后,随机选取化蛹 2 d 后的蛹,每处理 10 头,重复 6 次,记录每头蛹的质量。待羽化后,观察记录羽化数,卷翅情况,单雌产卵量,卵孵化率等。

1.6 数据统计分析

毒力测定的数据分析采用 DPS 软件;方差分析采用 SX 软件 LSD 方法 t 检验($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 甲氧虫酰肼亚致死剂量的确定

根据生物测定结果,利用几率值分析法建立的毒力回归方程。同源对照种群: $y = 1.7732 + 3.4943x$, $r = 0.9813$, $LC_{25} = 8.548 \mu\text{g/mL}$;抗性种群: $y = 1.4400 + 1.4040x$, $r = 0.9725$, $LC_{25} = 113.6 \mu\text{g/mL}$ 。经过实验验证,抗性和对照种群经相应 LC_{25} 处理后,校正死亡率为 $27\% \pm 3.2\%$ 和 $29\% \pm$

2.8%, 以此作为抗性和对照种群的亚致死剂量。

2.2 甲氧虫酰肼亚致死剂量对棉铃虫幼虫生长抑制作用

甲氧虫酰肼亚致死剂量处理后, 对照和抗性种群 3 龄初幼虫在处理 48 h 后的生长状况见表 1。试验结果表明, 与空白对照处理相比, 亚致死

剂量处理对对照种群或抗性种群幼虫的生长均存在显著的抑制作用。而亚致死剂量对抗性种群幼虫的生长抑制率显著低于对照种群的。这说明甲氧虫酰肼亚致死剂量对棉铃虫幼虫的生长存在亚致死效应, 事先经过甲氧虫酰肼处理的棉铃虫对亚致死剂量的忍受能力更高。

表 1 甲氧虫酰肼亚致死剂量对棉铃虫 3 龄幼虫的生长抑制率

Table 1 Growth inhibition rate of sublethal dose of methoxyfenozide on 3rd larva of *Helicoverpa armigera*

种群 - 处理 Population-Treatment	体 重 Weight(g)		48 h 生长量(g) Growth quantity for 48 h(g)	生长抑制率 Growth inhibition rate(%)
	处理前体重 Before treatment	处理后体重 After treatment		
S-CK	0.0066 ± 0.0001	0.0214 ± 0.0009	0.0148 ± 0.0009 a	37.30 ± 1.21a
S-LC ₂₅	0.0066 ± 0.0000	0.0159 ± 0.0001	0.0093 ± 0.0002 b	
R-CK	0.0068 ± 0.0000	0.0174 ± 0.0005	0.0105 ± 0.0002 c	21.20 ± 4.19b
R-LC ₂₅	0.0067 ± 0.0002	0.0150 ± 0.0005	0.0080 ± 0.0005 d	

注: 同列数据后标有不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$), R 代表抗性种群, S 代表对照种群。下表同。

Data followed by different letters in the same column indicate significant difference at 0.05 level, R stands for resistance population, S stands for sensitive population. The same below.

2.3 甲氧虫酰肼亚致死剂量对棉铃虫存活率的持续影响

亚致死剂量处理后, 将活虫转入无毒新鲜人工饲料, 每隔 2 d 检查幼虫存活情况, 结果见表 2。抗性种群亚致死剂量处理 2 d 后幼虫存活率为 68.5%, 4 d 后下降为 49.2%, 6 d 后下降为

40.6%。对照种群亚致死剂量处理 2 d 后幼虫存活率为 51.8%, 4 d 后下降为 48.2%, 6 d 后下降为 46.6%。对照种群的校正死亡率大于抗性种群。说明甲氧虫酰肼对对照种群存活率的持续性影响大于对抗性种群的影响。

表 2 甲氧虫酰肼亚致死剂量对幼虫存活的影响

Table 2 Sublethal effect of methoxyfenozide on larva survival of *Helicoverpa armigera*

种群处理 Treatment	总虫数 Number of larvae	药后 2 d Two days after treatment		药后 4 d Four days after treatment		药后 6 d Six days after treatment	
		存活数 Survival	存活率 Survival	存活数 Survival	存活率 Survival	存活数 Survival	存活率 Survival
		larvae	rate(%)	larvae	rate(%)	larvae	rate(%)
R-CK	115	97	84.3b	90	78.3b	82	71.3b
R-LC ₂₅	197	135	68.5c	97	49.2c	80	40.6c
S-CK	124	113	91.1a	110	88.7a	106	85.5a
S-LC ₂₅	191	99	51.8d	92	48.2c	89	46.6c

2.4 甲氧虫酰肼亚致死剂量对棉铃虫各虫态历期的影响

亚致死剂量药剂处理后, 棉铃虫各虫态历期均受到影响, 结果见表 3。在抗性种群中, LC₂₅ 处理与空白对照处理相比, 幼虫历期延长, 蛹期无明

显差异, 产卵前期和产卵期均无差异, 雌成虫寿命缩短, 孵化时间无差异; 在对照种群中, LC₂₅ 处理与空白对照处理相比, 幼虫历期明显延长, 蛹期略有延长, 产卵前期延长, 产卵期无差异, 雌成虫寿命缩短, 孵化时间无差异。抗性种群和对照种群比

较,亚致死剂量处理后,前者的幼虫历期、蛹期、雌成虫寿命明显长于后者。但产卵前期后者较长。

表 3 甲氧虫酰肼亚致死剂量对不同虫态发育历期及成虫寿命的影响

Table 3 Sublethal effects of methoxyfenozide on development period and adult longevity

种群处理 Treatment	幼虫历期 Larval period(d)	蛹期 Pupal period(d)	雌/雄 Male/ female (d)	雌蛾寿命 Female adult(d)	雄蛾寿命 Male adult(d)	产卵前期 Pre- oviposition- period(d)	产卵期 Oviposition period(d)	孵化期 Incubation period(d)
R-CK	11.60 ± 0.22a	11.63 ± 0.06a	1.08	12.45 ± 0.32a	10.8 ± 0.41a	2.75 ± 0.29a	5.74 ± 0.12a	2.99 ± 0.16a
R-LC ₂₅	13.88 ± 0.14b	11.52 ± 0.21a	0.88	11.52 ± 0.51b	9.73 ± 0.51ab	2.72 ± 0.29a	5.63 ± 0.25a	3.04 ± 0.07a
S-CK	8.17 ± 0.072c	10.05 ± 0.05c	1.27	12.33 ± 0.47a	11.25 ± 0.39a	2.01 ± 0.15b	5.86 ± 0.22a	2.99 ± 0.15a
S-LC ₂₅	12.74 ± 0.17d	11.16 ± 0.10b	1.0	10.51 ± 0.27c	10.94 ± 0.47a	3.22 ± 0.22c	6.12 ± 0.32a	3.01 ± 0.15a

2.5 甲氧虫酰肼亚致死剂量对棉铃虫生长发育和繁殖的影响

甲氧虫酰肼亚致死剂量对棉铃虫生长发育和繁殖都存在一定的影响,结果见表4。在抗性种群中,LC₂₅处理与空白对照处理相比,化蛹率和羽化率均略有下降,卷翅率有所提高,单雌产卵量和孵化率无显著变化;在对照种群中,LC₂₅处理与空白

对照处理相比,化蛹率和羽化率均显著下降,卷翅率有所提高,总产卵量和孵化率显著下降。

甲氧虫酰肼亚致死剂量处理对照种群,单雌产卵量仅为352粒、孵化率为55.4%,显著低于其他3种处理。亚致死剂量处理抗性种群,平均蛹重比空白对照降低了0.037 g;而亚致死剂量处理对照种群,平均蛹重比空白对照降低了0.063 g。

表 4 甲氧虫酰肼亚致死剂量对棉铃虫生长发育和繁殖的影响

Table 4 Sublethal effect of methoxyfenozide on growth and reproduction of *Helicoverpa armigera*

种群处理 Treatment	化蛹率 Pupation rate(%)	蛹重 Pupal weight (g)	畸蛹率 Abnormal rate of pupa(%)	羽化率 Emergence rate(%)	畸蛾率 Abnormal rate of moth(%)	产卵量 Fecundity (粒)	卵孵化率 Hatching rate of eggs(%)
R-CK	93.7a	0.245 ± 0.0097a	1.15ab	95.2a	13.3b	855 ± 46 a	79.6 ± 5.8 a
R-LC ₂₅	85.7ab	0.208 ± 0.0072b	1.22ab	90.9ab	20.0ab	796 ± 66 ab	77.4 ± 3.6 a
S-CK	95.8a	0.208 ± 0.0122b	2.14a	98.4a	4.8c	1070 ± 83 b	86.8 ± 5.9 b
S-LC ₂₅	77.8b	0.145 ± 0.0071c	1.25ab	76.7b	21.7a	352 ± 33 c	55. ± 7.34c

3 讨论

研究农药对害虫的亚致死效应,可以揭示低剂量药剂对昆虫生物学特性及种群动态的影响,为合理使用药剂,避免或减少其副作用提供理论依据。近几年,在农药毒理学研究上,农药的亚致死效应逐渐成为研究热点之一。一方面有些药剂在低剂量下有增强害虫繁殖的作用,如徐学农等(1998)研究发现,唑螨酯 LC₂₅ 和 LC₅₀ 剂量均会对雌成螨具有刺激增殖作用,且随剂量增高刺激作用增强。另一方面,研究表明亚致死剂量的酰肼类杀虫剂能干扰害虫生长发育和繁殖,从而对害

虫种群产生持续的控制作用。

本文通过短期处理,研究甲氧虫酰肼对棉铃虫的生长发育的持续影响。结果表明,甲氧虫酰肼亚致死剂量处理棉铃虫种群,幼虫生长发育迟缓,幼虫历期延长,化蛹率显著降低,蛹重减轻。冯从经等(2008)在对亚洲玉米螟的研究中发现,低剂量虫酰肼能降低幼虫体重及化蛹率。廖月枝等(2009)还发现低剂量的甲氧虫酰肼处理舞毒蛾,幼虫历期延长,幼虫体重和蛹重减轻,幼虫存活率和化蛹率降低。Trisyono 和 Chippendale (1998)对巨座玉米螟 *Diatraea grandiosella* 和欧洲玉米螟 *Ostrinia nubilalis* 的研究显示,低剂量甲氧

虫酰肼能明显延迟幼虫生长、降低蛹重和羽化率。本文研究结果与上述研究报道相符。

在农药对害虫繁殖的亚致死效应研究上也有较多的文献报道,如张天澍等(2010)通过甲氧虫酰肼对甜菜夜蛾的亚致死效应研究表明,2个处理种群产卵量减少或者基本不变,与同一种群亚致死处理和对照处理相比较,羽化率、成虫寿命和孵化率均表现出一定的差异性,而且不同种群差异程度不同。王贻莲等(2006)研究表明虫酰肼对甜菜夜蛾卵有抑制作用,但经过多代抗性筛选后该影响减弱。王利华等(2011)研究表明,亚致死剂量的毒死蜱对抗性灰飞虱繁殖影响与对照种群相比,有所减弱。本文研究结果也表明,甲氧虫酰肼亚致死剂量处理对棉铃虫的产卵量和卵孵化率存在较明显抑制作用,但与对照种群相比,其对抗性种群的抑制作用明显减弱。这些研究结果与以上文献报道一致,即抗性和对照种群在生长发育和繁殖过程中,都会受到亚致死效应的持续影响,但对抗性种群的影响减弱。

本研究为田间合理施药提供理论依据,指导我们使用该药剂防治棉铃虫时,应尽可能选择合适的施药方法和施药时间,使该害虫尽量避免受到药剂亚致死剂量的长期选择压力,以延长该药剂在田间的有效使用寿命。

参考文献 (References)

- Carlson GR, Dhadialla TS, Hunter R, Jansson RK, Jany CS, Lidert Z, Slawicki RA, 2001. The chemical and biological properties of methoxyfenozide, a new insecticidal ecdysteroid agonist. *Pest Manag. Sci.*, 57(2):115—119.
- Cutler GC, Scott-Dupree CD, Tolman JH, Harris CR, 2006. Toxicity of the insect growth regulator novaluron to the non-target predatory bug *Podisus maculiventris* (Heteroptera: Pentatomidae). *Biol. Control*, 38(2):196—204.
- Desneux N, Rafalmanana H, Kaiser L, 2004. Dose-response relationship in lethal and behavioural effects of different insecticides on the parasitic wasp *Aphidius ervi*. *Chemosphere*, 54(5):619—627.
- Saenz-de-Cabezón IFJ, Marco V, Zalom F, Pérez-Moreno I, 2005. Effects of methoxyfenozide on *Lobesia botrana* Den & Schiff (Lepidoptera: Tortricidae) egg, larval and adult stages. *Pest Manag. Sci.*, 61(11):1133—1137.
- Singh JP, Marwaha KK, 2000. Effect of sublethal

concentrations of some insecticides on growth and development of maize stalk borer, *Chilo partellus* (Swinhoe) larvae. *Shashpa*, 7(2):181—186.

Trisyono A, Chippendale GM, 1998. Effect of the ecdysone agonists, RH-2485 and tebufenozide on the southwestern corn borer, *Diatraea grandiosella*. *Pestic. Sci.*, 53(2):177—185.

范贤林,卢美光,孟香清,芮昌辉,2003. 棉铃虫室内饲养技术的改进. *昆虫知识*, 40(1):85—87.

冯从经,陆剑峰,董秋安,符文俊,2008. 亚致死剂量双氧威和虫酰肼对玉米螟幼虫生长发育的影响. *植物保护学报*, 35(2):175—180.

顾秀慧,贝亚维,高春先,2004. 蜕皮激素类似物美满防治甜菜夜蛾田间药效试验. *浙江农业学报*, 16(5):343—345.

李照民,赵小凡,李斐雪,王金星,2002. RH-2485对棉铃虫的室内药效试验. *植物保护学报*, 29(1):78—82.

廖月枝,严善春,曹传旺,刘丹,2009. 低剂量甲氧虫酰肼对舞毒蛾生长发育的影响. *植物保护学报*, 36(6):77—80.

刘娟,董利霞,谭晓伟,范贤林,芮昌辉,2011. 棉铃虫对甲氧虫酰肼抗性机理的初步研究. *农药学报*, 13(1):32—34.

刘娟,芮昌辉,范贤林,董利霞,2009. 棉铃虫对甲氧虫酰肼的抗性遗传力. *植物保护学报*, 36(4):349—353.

王建军,田大军,2009. 甲氧虫酰肼对斜纹夜蛾亚致死效应研究. *棉花学报*, 21(3):212—217.

王建军,田大军,庄静,2009. 斜纹夜蛾对甲氧虫酰肼的抗性选育及抗性风险评估. *江苏农业学报*, (1):46—49.

王利华,张月亮,郭慧芳,方继朝,2011. 毒死蜱对灰飞虱抗性和对照种群的亚致死效应比较. *中国水稻科学*, (5):27—29.

王贻莲,司升云,汪钟信,望勇,周利琳,2006. 虫酰肼对甜菜夜蛾子代种群的影响. *植物保护学报*, 33(2):193—196.

徐世才,李延清,王延峰,苑彩霞,封杰,廉振民,2008. 胡椒提取物对小菜蛾部分生物学特性的影响. *西北农业学报*, 17(4):201—203.

徐学农,王刚,高仕朋,1998. 杀螨王的亚致死浓度处理桃叶对山楂叶螨雌成螨生殖的影响. *安徽农业大学学报*, (4):21—23.

张天澍,王冬生,袁永达,滕海媛,谢定伯,彭睿智,2010. 甲氧虫酰肼对甜菜夜蛾生长繁殖的亚致死效应. *长江蔬菜*, (18):35—37.

朱丽梅,2001. 一个新的蜕皮激素拮抗剂—甲氧虫酰肼. *世界农药*, 23(6):50—52.