

稻飞虱的抗药性监测方法^{*}

张 凯 王志伟 高聪芬^{**}

(南京农业大学农药学系/教育部农作物生物灾害综合治理重点实验室 南京 210095)

摘 要 抗药性监测对于指导稻飞虱防治的科学用药和评价抗性治理的效果具有非常重要的意义。目前稻飞虱的抗药性监测普遍采用点滴法和稻茎浸渍法以及稻苗浸渍法。本文以不同监测方法的适用药剂和飞虱种类为切入点,系统地介绍了3种稻飞虱的抗药性监测方法,并比较了它们之间的特点,旨在为稻飞虱的抗药性监测提供技术指导。

关键词 稻飞虱, 抗药性监测, 稻茎浸渍法, 点滴法, 稻苗浸渍法

Methods for rice planthopper resistance monitoring

ZHANG Kai WANG Zhi-Wei GAO Cong-Fen^{**}

(Department of Pesticide, Nanjing Agricultural University; Key Laboratory of Integrated Management of Crop Diseases and Pests, Ministry of Education, Nanjing 210095, China)

Abstract Resistance monitoring plays an important role in directing the scientific application of insecticides and evaluating the effect of resistance-management in paddy fields. The rice-stem dipping and topical methods are popularly used for resistance monitoring in the brown and white-backed brown planthopper. However, the rice-seedling dipping method has been developed as a more suitable method for the small brown planthopper. These three resistance monitoring methods are discussed in order to provide a standard technique for monitoring the pesticide resistance of rice planthoppers.

Key words planthopper, resistance monitoring, rice-stem dipping method, topic method, rice-seedling dipping method

稻飞虱是亚洲水稻生产的重要害虫,发生历史悠久,为害严重。它们除可直接刺吸,产卵危害外,还可作为媒介传播植物病毒病。进入21世纪以来,灰飞虱、褐飞虱及白背飞虱在我国水稻产区此起彼伏、频繁暴发,严重威胁着水稻的优质高产。由于其他方法的滞后性等缺点以及我国面临的人口压力,化学防治将在很长时间内仍是防治稻飞虱的重要手段,但由于化学药剂的大量连续使用,加上操作不规范,导致3种稻飞虱已对其常规防治药剂产生了不同程度的抗性。因此有必要进一步提高、完善稻飞虱抗药性监测技术,在继续对稻飞虱抗药性进行监测与治理的基础上,重点加强科学合理的使用化学农药,以制定出较为完善的稻飞虱治理策略体系,实现水稻生产的可持续发展。

在20世纪90年代以前,由于稻飞虱的防治

药剂以有机氯、有机磷和氨基甲酸酯类为主,且这些药剂多具触杀作用,因此该时期稻飞虱的抗药性监测多采用点滴法;庄永林和沈晋良(2000)认为点滴法不能正确反映当时稻飞虱防治的当家药剂——噻嗪酮和吡虫啉的生物活性,而建立了稻茎浸渍法,该方法一方面将点滴法的试虫由雌成虫改为3龄若虫,另一方面由药剂直接处理稻飞虱雌成虫改为药剂处理稻茎(褐飞虱的主要取食部位),再接入稻飞虱任其刺吸取食一定时间,因此能更科学地反映出吡虫啉的内吸作用和噻嗪酮的生长发育调节作用,同时药剂的触杀活性也一能够体现出来。进入21世纪后,灰飞虱在苏、浙、皖、鲁及豫等省连年大发生,对于该虫的抗药性监测可以采用点滴法对常规具有触杀作用的药剂进行抗性监测,但就具有特殊作用方式的药剂而言,稻茎浸渍法存在一定的局限性,即5—6月

* 资助项目:公益性行业(农业)科研专项(201203038)。

**通讯作者, E-mail: gaocongfen@njau.edu.cn

收稿日期:2013-02-06, 接受日期:2013-02-23

份,在灰飞虱抗药性监测工作大量开展时,上述省份较难获得分蘖至孕穗期的稻茎,因此王利华等(2008)及班兰凤(2012)结合灰飞虱发生、危害特点建立了更适合于灰飞虱抗药性监测的稻苗浸渍法。下面就稻飞虱的3种抗药性监测方法分别进行介绍,旨在为进行稻飞虱的抗药性监测工作提供技术指导。

1 点滴法

该方法主要参照 Nagata 等(1979)及高辉华等(1987)。

1.1 药液配制

在电子天平上用容量瓶称取一定量的原药,用丙酮溶解,配制成一定浓度的母液。用移液管或移液器吸取一定量的母液加入青霉素瓶,用上述溶剂配制成一定质量浓度的药液供预备试验,根据预备试验结果,再按照等比法用青霉素瓶配制5~7个系列质量浓度,每个浓度的药液量不宜少于2 mL。

1.2 处理方法

CO₂ 轻度麻醉(10~15 s)羽化3~5 d的长翅雌成虫后,用毛细管微量点滴器(约0.04 μL)将药液点滴于飞虱胸部背板,每浓度15头试虫,重复3次,每处理共45头,以丙酮为对照。处理后的试虫放入垫有湿润滤纸的培养皿(直径为9 cm)内,饲养条件为温度(25±1)℃,光周期L:D=16:8。

1.3 结果检查和数据处理

处理后24 h检查记录死虫数,采用SAS、EPA、Polo、DPS等统计软件的机率值分析法进行统计分析,求出每个药剂的毒力回归方程式、LD₅₀值及其95%置信限、b值及其标准误。以LD₅₀的95%置信限不重叠作为判断不同杀虫剂间毒力差异显著的标准。

1.4 抗性水平的的计算与评估

抗性倍数(RR)=测试种群的LD₅₀/敏感品系的LD₅₀。其抗性水平的分级标准如下表1。

表 1 抗性水平的分级标准

Table 1 The classification standard of resistance level

抗性水平分级 Resistance levels	抗性倍数 Resistance ratio
敏感 Susceptible	RR < 3.0
敏感性下降 Minor resistance	3.0 ≤ RR < 5.0
低水平抗性 Low level resistance	5.0 ≤ RR < 10.0
中等水平抗性 Moderate level resistance	10.0 ≤ RR < 40.0
高水平抗性 High level resistance	40.0 ≤ RR < 160.0
极高水平抗性 Extremely high level resistance	RR ≥ 160.0

注:参照沈晋良和吴益东(1995)。

Cited from Shen and Wu (1995).

1.5 常用药剂的敏感基线

常用药剂的敏感基线参照 Song 等(1995)及 Endo 和 Tsurumachi(2000)。

2 稻茎浸渍法

该方法主要参照庄永林和沈晋良(2000)。

2.1 药液配制

在电子天平上用容量瓶称取一定量的原药,用有机溶剂(丙酮、乙醇等)溶解,加入10%(m/v)用量的 Triton-X100(或吐温80),加工成简易制

剂,并用蒸馏水稀释。根据实验预备结果,按照等比方法设置5~7个系列质量浓度。每质量浓度药液量不少于400 mL。

2.2 测定方法

连根拔出健壮的分蘖期至孕穗期的稻株,洗净,剪成约10 cm长的带根稻茎,3株一组,于阴凉处晾至表面无明水。然后将稻茎分别在不同浓度的药液中浸30 s,取出晾干,用湿脱脂棉包住根部保湿,置于塑料杯中,每杯3株。按试验设计剂量从低到高的顺序重复上述操作,每浓度处理3次

重复,并设不含药剂的处理做空白对照。用吸虫器将 3 龄若虫移入塑料杯中,每杯 15 头,3 个重

复,共 45 头,杯口用海绵盖住,转移至温度为(25±1)℃,光周期 L:D=16:8 的条件下饲养(图 1)。

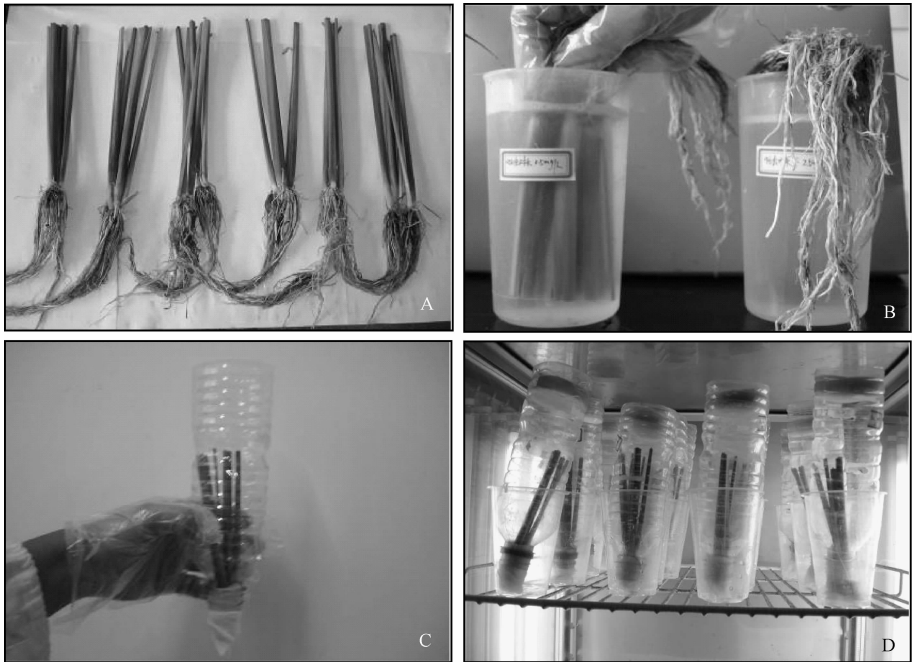


图 1 稻茎浸渍法

Fig.1 Rice-stem dipping method

A. 剪好后洗净的稻茎;B. 稻茎浸药;C. 稻茎浸药晾干后固定入塑料瓶中;D. 接入虫后置于培养箱中。

A. rice stem after cut and washed ; B. dip the rice stem into insecticide dilution; C. fix the rice stem into plastic pot when they are air dried; D. incubate the pot after the nymphs transferred.

2.3 结果检查和数据处理

根据药剂作用速度快慢来确定处理后检查死亡虫数的时间:有机磷、氨基甲酸酯类杀虫剂处理后 48 h 检查结果;新烟碱及苯基吡唑类杀虫剂处理后 96 h 检查结果;昆虫生长调节剂类杀虫剂处理后 120 h 检查结果,记录死虫数。数据处理同点滴法。

2.4 抗性水平的计算和评估

同点滴法。

2.5 常用药剂的敏感基线

褐飞虱的敏感基线参照水稻褐飞虱抗药性监测技术规程,见表 2。

表 2 6 种杀虫剂对白背飞虱敏感品系 3 龄若虫的敏感基线

Table 2 Baseline-susceptibility of 3rd nymphs of *Sogatella furcifera* to 6 insecticides

药剂 Insecticides	供试虫量 <i>n</i>	斜率±SE Slope±SE	LC ₅₀ (95%置信限)(mg/L) LC ₅₀ (95%FL)(mg/L)
吡虫啉 Imidacloprid	270	1.906±0.284	0.109(0.057-0.172)
噻虫嗪 Thiamethoxam	270	1.470±0.251	0.096(0.040-0.169)
噻嗪酮 Buprofezin	270	1.580±0.265	0.044(0.032-0.059)
毒死蜱 Chlorpyrifos	270	1.918±0.291	0.236(0.169-0.312)
吡蚜酮 Pymetrozine	270	2.158±0.335	0.478(0.340-0.625)
异丙威 Isoprocarb	270	2.200±0.700	16.13(11.46-26.26)

注: * 数据来源于王志伟(2012)。
The data cited from Wang (2012).

3 稻苗浸渍法

该方法主要参照 Ban 等(2012)。

3.1 药液配制

同稻茎浸渍法。

3.2 测定方法

将 6 日龄武育梗 3 号稻苗 30 株连根一起在系列浓度的药液中浸 10 s,每个浓度重复 3 次,并设

不含药剂的处理做空白对照,取出沥至无液体滴下后置于垫有滤纸的一次性塑料杯中。30 min 后用吸虫器将 3 龄若虫移入塑料杯中,每杯 15 头,3 个重复,共 45 头,然后用保鲜膜封口并用 3 号昆虫针扎孔,以防湿度过大增加死亡率和飞虱逃逸。接虫后的培养杯放置于 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、湿度 $70\% \pm 10\%$ 、光照周期 L:D = 16:8 的恒温光照培养箱中(图 2)。

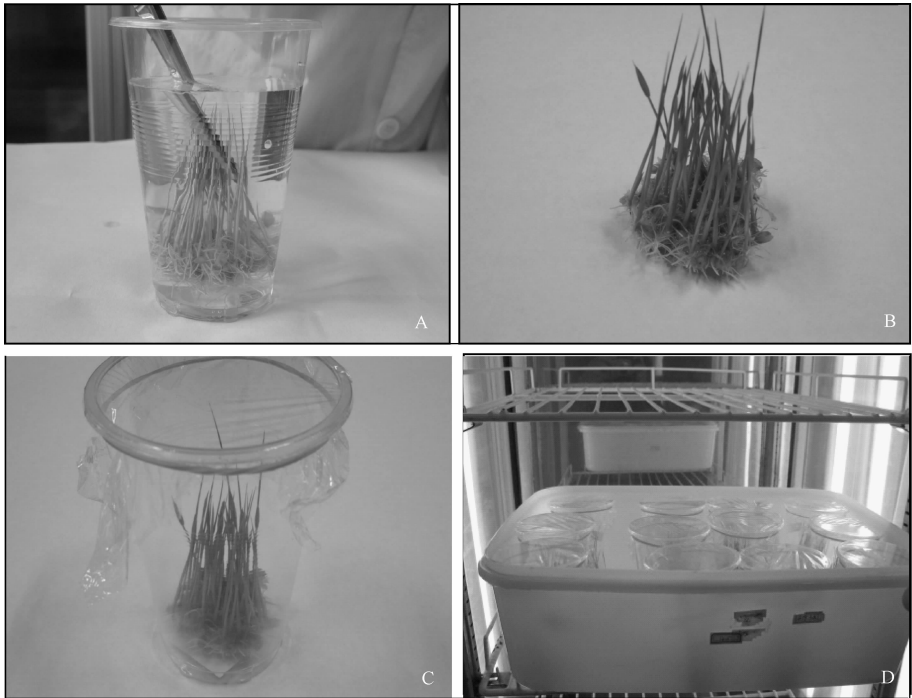


图 2 稻苗浸渍法

Fig.2 Rice-seedling dipping method

A. 稻苗浸渍药液 10 s;B. 浸药后的稻苗自然晾干;C. 接虫,用保鲜膜封口;D. 放入培养箱中培养。

A. dip the rice seedlings into insecticide dilution for 10 s; B. keep the rice seedlings air dried; C. transfer the nymphs into plastic pot and sealed with plastic wrap; D. incubate the treated pot.

3.3 结果检查和数据处理

同稻茎浸渍法。

3.4 抗性水平的计算和评估

同点滴法。

3.5 常用药剂的敏感基线

杀虫剂对灰飞虱敏感品系 3 龄若虫的敏感基线见表 3。

4 讨论

根据药剂特性和 3 种稻飞虱的危害特点,选用科学合理的抗性监测方法是准确评价田间稻飞虱抗性水平的前提条件。稻飞虱的抗性监测最传统的方法是点滴法(Kimura,1965),该方法适合于以触杀作用为主的杀虫剂(如有机磷、氨基甲酸酯类及拟除虫菊酯类等)的抗性监测。由于其测定的对象是雌成虫,并且在点滴前需要用 CO₂ 对其进行麻醉,供试成虫饲养周期长、群体量较

表 3 5 种杀虫剂对灰飞虱敏感品系 3 龄若虫的敏感基线
Table 3 Baseline-susceptibility of 3rd nymphs of *Laodelphax striatellus* to 5 insecticides

药剂 Insecticides	处理虫量 <i>n</i>	斜率 ± SE Slope ± SE	LC ₅₀ (95% 置信限) (mg/L) LC ₅₀ (95% FL) (mg/L)
氟虫腈 Fipronil	360	2.2913 ± 0.3197	0.135 (0.101 – 0.170)
毒死蜱 Chlorpyrifos	360	2.1323 ± 0.3772	0.482 (0.362 – 0.624)
烯啶虫胺 Nitenpyram	360	2.4516 ± 0.3558	1.231 (0.935 – 1.531)
噻虫嗪 Thiamethoxam	360	2.1236 ± 0.4325	1.792 (1.339 – 2.277)
吡蚜酮 Pymetrozine	360	1.7481 ± 0.2520	7.996 (5.799 – 10.504)
吡虫啉* Imidacloprid	360	1.4000 ± 0.2300	11.270 (7.820 – 16.820)

注：* 数据来源自王利华等(2008)。
The data cited from Wang *et al.* (2008).

大,因此点滴法需要具有专业操作技术的人员才能开展抗药性监测工作。稻茎浸渍法是庄永林等(2000)建立的稻飞虱抗药性监测方法,该方法一方面以 3 龄若虫代替点滴法的雌成虫为供试对象,不但缩短了试虫饲养时间和减少了群体数量,而且药剂处理后至检查结果期间,稻飞虱经历了 2 次蜕皮过程,可以使昆虫生长调节剂——噻嗪酮的活性得以体现;此外稻茎浸渍法以药剂处理稻茎(褐飞虱的主要取食部位),再接入稻飞虱任其刺吸取食一定时间,因此更符合稻飞虱田间防治的实际情况,同时药剂的触杀活性也一并能够体现出来。因此对于水稻褐飞虱和白背飞虱对常规药剂的抗性监测均可采用稻茎浸渍法。

在 3 种稻飞虱中,褐飞虱和白背飞虱的为害部位主要为分蘖后的水稻,而灰飞虱除为害水稻外,其越冬代还可危害小麦,1 代成虫转移到稻田,危害早、中稻秧田和本田分蘖期的稻苗。因水稻生长后期灰飞虱和褐飞虱混合发生时,灰飞虱的采集和分离工作比较困难,灰飞虱抗药性监测工作中试虫的采集一般在 4 月下旬 5 月上中旬的小麦田第 1 代灰飞虱发生期进行,在室内繁殖 1~2 代后,于 5—7 月上旬进行药剂的抗性监测。而此时在灰飞虱普遍发生的浙江北部、江苏、安徽及河南等地区还无法供应稻茎浸渍法所需的分蘖期至孕穗期的稻茎,而稻苗在室内四季均可种植,因此保证抗性监测工作的可靠性和重复性,稻苗浸渍法更适合作为灰飞虱抗药性监测方法。

吡蚜酮是目前稻飞虱普遍使用的防治药剂,由于其独特的取食抑制的作用机理和 1 个月以上的持效期,点滴法、稻茎浸渍法及稻苗浸渍法都无法准确反映吡蚜酮对稻飞虱的生物活性,因此目

前采用的稻茎(苗)浸渍法进行的稻飞虱对吡蚜酮的抗性监测技术,仅能反映出稻飞虱对吡蚜酮的抗性发展趋势,而无法准确测定田间稻飞虱对吡蚜酮的抗性水平。作者实验室 2008 年曾探索使用生长 2~3 周的盆栽稻苗进行吡蚜酮的生物测定,处理 14 d 后其对褐飞虱的 LC₅₀ 值仅为采用稻茎浸渍法测定(处理 5 d)的 LC₅₀ 值的 1/40,可以认为该方法能相对较准确地反映吡蚜酮对褐飞虱的室内毒力,但采用该方法进行抗药性监测时,较难保证在 F₂ 代前成功地完成测定。因而对于吡蚜酮,目前还没有理想的抗药性监测方法,我们目前正在探索建立适用于吡蚜酮的抗性监测技术,以便能对吡蚜酮的田间抗性水平做出客观的评价。

参考文献 (References)

Ban LF, Zhang S, Huang ZY, He YP, Peng YQ, Gao CF, 2012. Resistance monitoring and assessment of resistance risk to pymetrozine in *Laodelphax striatellus* (Fallén) (Hemiptera: Delphacidae). *J. Econ. Entomol.*, 105(6): 2129 – 2135.

Endo S, Tsurumachi M, 2000. Insecticide resistance and insensitive acetylcholinesterase in small brown planthopper, *Laodelphax striatellus*. *J. Pestic. Sci.*, 25(4):395 – 397.

Kimura Y, 1965. Resistance to malathion in the small brown planthopper, *Laodelphax striatellus* (Fallén). *J. Appl. Entomol. Zool.*, 9(4):251 – 258.

Nagata T, Masuda T, Moriya S, 1979. Development of insecticide resistance in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål) (Homoptera: Delphacidae). *Appl. Entomol. Zool.*, 14(3):264 – 269.

Sone S, Hanori Y, Tsuboi S, Otsu Y, 1995. Difference in

susceptibility to imidacloprid of the population the small brown planthopper, *Laodelphax striatellus* (Fallén), from various localities in Japan. *J. Pestic. Sci.* , 20(4):541 – 543.

班兰凤, 2012. 灰飞虱抗药性监测及对吡蚜酮的抗性风险评估. 硕士学位论文. 南京:南京农业大学.

高辉华, 王荫长, 谭福杰, 1987. 稻飞虱对杀虫剂敏感性水平的研究. 南京农业大学学报, 4(增):65 – 71.

沈晋良, 吴益东, 1995. 棉铃虫抗药性及其治理. 北京:中国农业出版社. 259 – 280.

王利华, 方继朝, 刘宝生, 2008. 几类杀虫剂对灰飞虱的相对毒力及田间种群抗药性现状. 昆虫学报, 54(1):13 – 19.

王志伟, 2012. 白背飞虱抗药性监测及对噻嗪酮和吡虫啉的抗性风险评估. 硕士学位论文. 南京:南京农业大学.

庄永林, 沈晋良, 2000. 稻褐飞虱对噻嗪酮抗性的检测技术. 南京农业大学学报, 23(3):114 – 117.