

联苯菊酯和啉虫脒对苹果黄蚜的 区分剂量研究*

封云涛^{1,2**} 王 振¹ 张润祥^{1,2} 庾 琴^{1,2}
刘中芳^{1,2} 高 越^{1,2} 范仁俊^{1,2***}

(1. 山西省农业科学院植物保护研究所, 太原 030031; 2. 农业有害生物综合治理山西省重点实验室, 太原 030031)

摘 要 【目的】为了快速简便地明确苹果黄蚜 *Aphis citricola* 对常用药剂的敏感性, 研究了联苯菊酯和啉虫脒对苹果黄蚜的区分剂量。【方法】在诊断剂量法的基础上进行了改进, 采用玻璃管药膜法进行了研究, 并进行了重现性和田间试验验证。【结果】联苯菊酯和啉虫脒的区分剂量分别为 $0.021 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 和 $0.003 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, 联苯菊酯和啉虫脒玻璃管药膜在 4°C 下, 最长均可保存 20 d, 其毒力效果不变。【结论】研究得出的区分剂量具有较好的重现性, 可用于快速检测苹果黄蚜对联苯菊酯和啉虫脒的敏感性。

关键词 苹果黄蚜, 区分剂量, 啉虫脒, 联苯菊酯, 敏感性检测, 储存时间

Research on discrimination dose of acetamiprid and bifenthrin in *Aphis citricola* van der Goot

FENG Yun-Tao^{1,2**} WANG Zhen¹ ZHANG Run-Xiang^{1,2} YU Qin^{1,2}
LIU Zhong-Fang^{1,2} GAO Yue^{1,2} FAN Ren-Jun^{1,2***}

(1. Institute of Plant Protection, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan 030031, China;

2. Shanxi Key Laboratory of Integrated Pest Management in Agriculture, Taiyuan 030031, China)

Abstract [Objectives] In order to quickly and easily determine the susceptibility of *Aphis citricola* van der Goot to conventional insecticides, the discrimination dose of acetamiprid and bifenthrin was determined. [Methods] It was used discriminating dose bioassay on the basis of improved diagnostic dose method, and was verified with filed populations. [Results] The results showed that the susceptible discrimination dose values for bifenthrin and acetamiprid were $0.021 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ and $0.003 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, respectively. Storage test showed that the membrane of acetamiprid and bifenthrin can be stored up to 20 days at 4°C . [Conclusion] The test results reproducibility is better, and it can be used for rapid detection of sensitivity to acetamiprid and bifenthrin.

Key words *Aphis citricola* van der Goot, discrimination dose, acetamiprid, bifenthrin, sensitivity detection, storage time

苹果黄蚜 *Aphis citricola* van der Goot 又名绣线菊蚜, 在我国主要分布于河北、内蒙古、山西、山东、河南等地区, 主要寄主有苹果、梨、山楂、绣线菊等植物, 是我国北方果园中为害果树的主要害虫之一 (刘慧平, 2005)。该虫以成、若蚜刺吸汁液, 使被害叶向叶背横卷, 严重时呈血红

色早期脱落, 苗圃、幼树尤其嫩梢受害较重。为了有效控制苹果黄蚜的危害, 需要明确其对常用药剂的敏感性, 便于科学选药和用药。

目前常用点滴法或浸叶法, 通过比较田间品系和敏感品系对常用药剂的致死中浓度来确定蚜虫的敏感度。近年来, 一种更为简便的研究病虫害

* 资助项目 Supported projects: 公益性行业科研专项项目 (200903033), 山西省农业科学院科技自主创新能力提升工程项目 (2015ZZCX-15)

**第一作者 First author, E-mail: fyt52@126.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: rjfan@163.com

收稿日期 Received: 2014-09-30, 接受日期 Accepted: 2015-03-04

敏感性的方法逐渐受到研究人员的重视,即诊断剂量法。诊断剂量法分为两种,一种为平坡诊断法,另一种为区分剂量法。平坡诊断法是通过一系列不同的浓度梯度来测定 LD₅₀ 曲线,根据出现的平坡与拐点来确定敏感与抗性剂量的一种方法;区分剂量法是指能引起敏感种群 99% 个体死亡的剂量,为联合国粮农组织推荐的方法,该方法认为用诊断剂量处理田间害虫种群后,只有抗性个体存活。目前,采用平坡诊断法研究敏感性的害虫有小菜蛾 *Plutella xylostella* L. (赵建周等, 1996; 黄斌, 2005; 黄斌等, 2005; 黄斌和郭莹, 2005; 章金明等, 2012)、黄曲条跳甲 *Phyllotreta striolata* Fabricius (傅建伟等, 2006); 采用区分剂量法研究害虫抗药性的有棉蚜 *Aphis gossypii* Glover (罗万春等, 1990)、棉铃虫 *Helicoverpa armigera* Hübner (卢美光等, 2000; 李富根等, 2000)、马铃薯甲虫 *Leptinotarsa decemlineata* Say (熊满辉等, 2010)、盲蝽 *Apolygus lucorum* Meyer-Dür (谭瑶等, 2012) 及稻飞虱 *Nilaparvata lugens* Stål (卢鹏, 2011), 这些研究确定了部分害虫的敏感基线和抗性诊断剂量, 在定性判别是否产生抗药性时具有较高的可信度。

诊断剂量法相比传统的致死中浓度法更为简便, 但是平坡诊断法因为需要设置大量的处理, 在研究不同地区病虫害敏感性时工作量太大; 而区分剂量法在确定区分剂量后, 研究病虫害敏感性时则较为便捷, 但是通常敏感品系不易获得, 且仅用敏感品系 LC₉₉ 或 LD₉₉ 对应的剂量药液处理试虫时, 其死亡率可能与 99% 相差较大而不能获得诊断剂量, 鉴于此, 笔者以苹果黄蚜为试虫, 选择防治苹果黄蚜的常用药剂烟碱类和菊酯类农药, 并以啶虫脒和联苯菊酯为代表, 在传统方法的基础上进行了修正, 进行了区分剂量的研究, 以期得到重现性强的区分剂量, 用于研究苹果黄蚜的敏感性。

1 材料与方法

1.1 试虫

苹果黄蚜 *Aphis citricola* (敏感品系: 采自太

原市小店区孙家寨温室大棚, 未接触任何药剂; 田间品系: 采自太原市小店区孙家寨果园, 通过浸叶法测得抗性倍数分别为: 联苯菊酯 5.69 倍, 啶虫脒 3.01 倍)。

1.2 供试药剂和仪器

98.54% 啶虫脒原药购自山东省联合农药工业有限公司; 95.60% 联苯菊酯原药购自江苏常隆化工有限公司。平底玻璃指形管 (长 7.5 cm, 直径 2.5 cm); 体式显微镜 (Olympus SZX7), 自制棉塞等。

1.3 方法

1.3.1 毒力测定 采用玻璃管药膜法。用微量移液器在长 7.5 cm、直径 2.5 cm 的指形管中加入 500 μ L 不同浓度的药液, 缓慢倾斜转动使药液在指形管底面及管壁内不同高度范围内形成均匀药膜; 晾干后每管中接入大小一致的苹果黄蚜 20 头, 然后将棉塞推至药膜边缘处 (距离管底 4 cm, 内表面积 31.40 cm²), 放于温度 25 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C、光周期 14 L: 10 D 的光照培养箱中, 每个浓度重复 4 次, 每个药剂设置 5~8 个浓度。1 h 后调查蚜虫死亡数, 计算死亡率。每个药剂分不同时间重复进行 3 次毒力测定, 最后合并数据得出毒力回归方程, 毒力回归方程采用 SPSS 软件中 Probit 模块进行计算。

1.3.2 区分剂量确定 根据毒力回归方程分别计算 LC₅₀、LC₆₀、LC₇₀、LC₈₀ 和 LC₉₀ 对应的剂量, 用该剂量按照方法 1.3.1 处理敏感品系苹果黄蚜试虫, 计算死亡率, 选择死亡率与理论死亡率最接近者作为区分剂量, 每个剂量重复 4 次。

1.3.3 验证实验 分别用区分剂量药液处理敏感品系及田间品系试虫, 计算死亡率, 与浸叶法结果进行比较。

1.3.4 储存时间对毒力测定的影响 在室内制备区分剂量药膜玻璃管, 晾干后将玻璃管放在 4 $^{\circ}$ C 下保存 (用锡箔纸包裹) 不同时间, 取出后接入试虫, 计算死亡率后, 比较不同储存时间下的死亡率。

2 结果与分析

2.1 毒力测定

联苯菊酯和啮虫脒对苹果黄蚜的毒力见表 1, 从表 1 中可以看出, 不同时间测试所得 LC_{50} 值差别不大, 将数据合并后重新计算得到各药剂对苹果黄蚜的毒力回归方程。

2.2 区分剂量确定

利用合并后的毒力回归方程可计算死亡率在 50%、60%、70%、80%和 90%时所对应的剂量, 用各剂量处理苹果黄蚜敏感品系, 计算死亡率, 结果如表 2 所示。

发现死亡率最接近理论值的分别是联苯菊酯 1.3 mg/L, 啮虫脒 0.19 mg/L, 而其余浓度与毒力回归曲线偏离较远, 说明不能仅选择 LC_{99} 或 LD_{99} 做为检验测试对象敏感性的标准, 而应该通过试验检验该剂量是否较好的重现性。因此选择 1.3 mg/L 和 0.19 mg/L 分别作为联苯菊酯和啮虫脒的区分浓度, 即联苯菊酯和啮虫脒的区分剂量分别为 $0.021\ \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 和 $0.003\ \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 。

2.3 验证实验

用区分剂量处理两种品系的苹果黄蚜, 计算死亡率, 结果如表 3 所示。

表 1 苹果黄蚜对联苯菊酯和啮虫脒的敏感性 (药膜法)
Table 1 The susceptibility of *Aphis citricola* to bifenthrin and acetamiprid

药剂 Insecticides	重复 Repeats	毒力回归方程 Regression equation	相关 系数 R^2	致死中浓度 LC_{50} (mg/L)	95%置信限 (95%FL) (mg/L)
联苯菊酯 Bifenthrin	1	$y=5.750+1.217x$	0.962	0.242	0.090-0.427
	2	$y=5.563+0.967x$	0.906	0.262	0.008-0.904
	3	$y=5.589+1.373x$	0.967	0.372	0.206-0.645
	合并 Combine	$y=5.688+1.346x$	0.956	0.308	0.204-0.425
啮虫脒 Acetamiprid	1	$y=6.778+1.550x$	0.931	0.071	0.030-0.117
	2	$y=5.970+0.970x$	0.941	0.100	0.037-0.209
	3	$y=5.705+0.688x$	0.982	0.094	0.009-0.271
	合并 Combine	$y=5.832+0.801x$	0.927	0.092	0.048-0.156

表 2 联苯菊酯和啮虫脒不同剂量下苹果黄蚜的死亡率
Table 2 Mortality of *Aphis citricola* to different dosage of bifenthrin and acetamiprid

药剂 Insecticides	理论死亡率 Theory mortality (%)	浓度 Concentration (mg/L)	剂量 Dosage ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	处理后校正死亡率 Adjusted mortality (%)
联苯菊酯 Bifenthrin	50	0.308	0.0049	11.560 ± 1.580
	60	0.475	0.0076	65.391 ± 2.630
	70	0.755	0.0120	57.461 ± 3.091
	80	1.300	0.0021	79.650 ± 2.052
	90	2.758	0.0439	82.050 ± 2.650
啮虫脒 Acetamiprid	50	0.092	0.0015	46.790 ± 1.690
	60	0.190	0.0030	57.250 ± 2.880
	70	0.413	0.0066	77.510 ± 1.560
	80	1.028	0.0164	96.950 ± 2.341
	90	3.638	0.0579	98.660 ± 1.643

表 3 药剂区分剂量对不同品系苹果黄蚜毒力
Table 3 Toxicity of discrimination dose to *Aphis citricola*

药剂 Insecticides	试虫 Insects	死亡率 Mortality (%)	对照死亡率 Mortality of CK (%)	校正死亡率 Adjusted mortality (%)
联苯菊酯 Bifenthrin	田间品系 Field strain	11.631 ± 2.13	4.880 ± 3.211	7.100 ± 0.750
	敏感品系 Susceptible strain	79.751 ± 3.18	3.700 ± 1.114	78.970 ± 2.871
啶虫脒 Acetamiprid	田间品系 Field strain	28.890 ± 1.89	5.380 ± 2.052	24.850 ± 3.610
	敏感品系 Susceptible strain	56.520 ± 2.10	2.530 ± 0.894	55.390 ± 2.062

从表 3 可以看出,用对应的区分剂量处理两种品系的苹果黄蚜后,联苯菊酯对田间品系的毒力远低于敏感品系,表明田间品系对联苯菊酯敏感性较低;而啶虫脒对田间品系的毒力虽低于敏感品系,但差距较小,表明田间品系对啶虫脒较为敏感。

与浸叶法的测试结果相比较,田间品系对联苯菊酯和啶虫脒的抗药性倍数分别为 5.69 倍和 3.01 倍,说明田间品系对联苯菊酯的抗药性更高,对啶虫脒较敏感,这与用区分剂量法所获得的结果相似。另外,比较各药剂对敏感品系的毒力,发现校正死亡率与理论死亡率较接近,证明了所选区分剂量具有较好的重现性。

2.4 不同储存时间对毒力测定的影响

试验结果表明(图 1),啶虫脒药膜(区分剂量)玻璃管在 4℃ 条件下分别保存 3、7、10 和 20 d 后,其接入苹果黄蚜的校正死亡率与室温下即时制作的药膜管的校正死亡率无差异,仍能达到约 60%,说明对毒力测定无影响;而保存

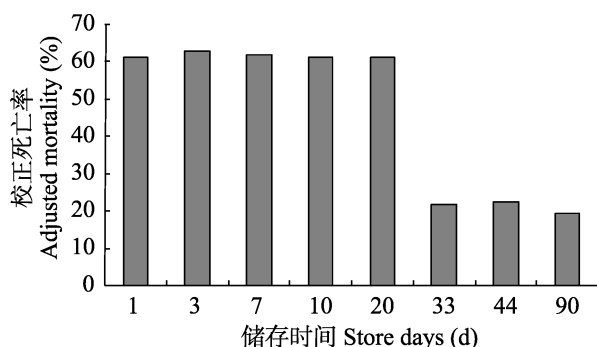


图 1 不同储存时间对毒力测定的影响

Fig. 1 The effect of different storage time to toxicity determination

20%左右,药膜失效,不能很好的发挥毒力作用。联苯菊酯也表现出同样的趋势,因此在田间使用啶虫脒和联苯菊酯区分剂量玻璃管时,可根据虫情提前制备药膜管放于 4℃ 条件下,最长可保存 20 d,而不影响测定效果。

3 结论

本论文对传统的区分剂量法进行了修正,利用修正后的方法研究了啶虫脒和联苯菊酯对苹果黄蚜的区分剂量,并进行了重现性验证和田间验证,发现所得区分剂量具有较好的重现性,能够简捷快速地判断害虫的敏感性,且所采用的修正后的区分剂量法不再局限于 LC₉₉ 或 LD₉₉ 这一个剂量,而是通过试验选择重现性最好的剂量作为区分剂量,结果更为可靠;相比于平坡法,区分剂量法更为简捷,工作量更小,在确定诊断剂量后仅需一个处理即可大致判断病虫害的敏感性范围,更具有可操作性。储存试验表明可提前制备检测药膜,不影响测定结果。该两种诊断剂量的使用方法为:将室内提前制备的诊断用玻璃管携带至田间;按田间抽样标准,抽取带蚜虫的苹果枝梢,震荡苹果枝梢使蚜虫脱落在白纸上,选取活泼的苹果黄蚜成蚜放入诊断试剂管中,每管 15~20 头(尽量选取无翅成蚜),用棉塞封口,每个药剂 3~5 个诊断试剂管重复;将装有蚜虫的诊断试剂管放置室内(避免阳光直射)1 h 后检查死亡率;当检测的啶虫脒死亡率 ≥ 60% 或联苯菊酯死亡率 ≥ 80% 时,说明药剂能有效控制试虫的田间种群,低于上述死亡率标准时,不代表没有防治效果,意味着已经产生抗性,应选择其他药剂进行防治。

采用修正后的区分剂量法判断病虫害的敏感性, 具有广泛的应用前景, 今后可依据药膜附着的不同载体发展成为便捷、快速“田间诊断试剂盒”供基层科技人员或农民使用, 指导田间科学用药。

参考文献 (References)

- Fu JW, Li JY, Lin ZY, Chen Q, You MS, 2006. Application of diagnostic dose method to monitoring the resistance of striped flea beetle to insecticides in Fujian Province. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)*, 35 (5): 475–479. [傅建伟, 李建宇, 林泽燕, 陈沁, 尤民生, 2006. 诊断剂量法在黄曲条跳甲抗性监测中的应用. 福建农林大学学报(自然科学版), 35(5): 475–479.]
- Huang B, 2005. Study about the resistance of different areas's diamondback moth (*Plutella xylostella* L.) in Fujian province. Doctoral dissertation. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University. [黄斌, 2005. 福建省不同地区小菜蛾的抗药性研究. 博士学位论文. 福州: 福建农林大学.]
- Huang B, Guo Y, 2005. Determination of the susceptible dose and resistant dose for diamondback moth by diagnostic test. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 27 (1): 85–88. [黄斌, 郭莹, 2005. 用诊断剂量对小菜蛾抗性敏感剂量的确定. 江西农业大学学报, 27 (1): 85–88.]
- Huang B, Guo Y, Zhao JW, Xu GW, Ma XT, 2005. Abmectin-resistance difference among diamondback moth populations in Fujian Province and the determinaton of diagnostic dose. *Journl of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)*, 34 (3): 294–296. [黄斌, 郭莹, 赵景玮, 徐国文, 马熙腾, 2005. 福建省各地小菜蛾对阿维菌素的抗性种群分化及其诊断剂量. 福建农林大学学报(自然科学版), 34 (3): 294–296.]
- Li FG, Rui CH, Meng XQ, Zhao JZ, 2000. Comparison of resistant levels to different type insecticides in *Helicoverpa armigera* Hübner from Xinjiang and North China. *Pesticide Science and Administration*, 21(5): 35–36. [李富根, 芮昌辉, 孟香清, 赵建周, 2000. 新疆与华北棉区棉铃虫对不同类型杀虫剂抗性水平的比较. 农药科学与管理, 21 (5): 35–36.]
- Liu HP, 2005. Resistance dynamic and mechanism of *Tetranychus viennensis* Zacher and *Aphis citricola* Von Der Goot to insecticides. Doctoral dissertation. Taigu: Shanxi Agricultural University. [刘慧平, 2005. 山楂叶螨和苹果黄蚜抗性动态及抗性机理研究. 博士学位论文. 太谷: 山西农业大学.]
- Lu MG, Zhao JZ, Fan XL, Rui CH, Wei C, Liang GM, 2000. Resistance monitoring of *Helicoverpa armigera* (Hübner) to *Bacillus thuringiensis* insecticidal proteins in North China. *Acta Gossypii Sinica*, 12(4): 180–183. [卢美光, 赵建周, 范贤林, 芮昌辉, 魏岑, 梁桂梅, 2000. 华北地区棉铃虫对 Bt 杀虫蛋白的抗性监测. 棉花学报, 12(4): 180–183.]
- Luo WC, Ling B, Yue LQ, Liu FZ, 1990. Research of insecticide resistance of cotton aphids in Xinjiang. *Acta Phytophylacica Sinica*, 17(3): 283–288. [罗万春, 凌冰, 岳留强, 刘芳政, 1990. 新疆棉蚜抗性研究. 植物保护学报, 17(3): 283–288.]
- Lu P, 2011. Study on the susceptibility of several kinds of insecticides and rapid detection of insecticides resistance in rice planthopper. Doctoral dissertation. Wuhan: Huazhong Agricultural University. [卢鹏, 2011. 稻飞虱对几种杀虫剂的敏感性及其抗性快速检测的研究. 博士学位论文. 武汉: 华中农业大学.]
- Tan Y, Zhang S, Gao XW, 2012. Monitoring of insecticide of resistance of the cotton bugs *Apolygus lucorum* and *Adelphocoris suturalis*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 49(2): 348–358. [谭瑶, 张帅, 高希武, 2012. 两种盲蝽的抗药性监测. 应用昆虫学报, 49(2): 348–358.]
- Xiong MH, Jiang WH, Li GQ, 2010. Monitoring of insecticide resistance in larvae of *Leptinotarsa decemlineata* in Xinjiang Uygur autonomous region by diagnostic dose. *Chiniese Bulletin of Entomology*, 47(4): 763–766. [熊满辉, 姜卫华, 李国清, 2010. 诊断剂量法监测新疆维吾尔自治区马铃薯甲虫的抗药性. 昆虫知识, 47(4): 763–766.]
- Zhang JM, Song L, Huang F, Li WD, Zheng XL, Zhang PJ, Lv YB, 2012. Study about the resistance of different areas's diamondback moth (*Plutella xylostella* L.) to chlorantraniliprole and indoxacarb. *Journal of Jhejiang Agricultural Sciences*, (6): 857–859, 861. [章金明, 宋亮, 黄芳, 郦卫弟, 郑雪良, 张蓬军, 吕要斌, 2012. 不同地区小菜蛾对氯虫苯甲酰胺和茚虫威的抗性初报. 浙江农业科学, (6): 857–859, 861.]
- Zhao JZ, Wu SC, Gu YZ, Zhu GR, Ju ZL, 1996. Strategy of insecticide resistance management in the diamondback moth. *Scientia Agricultura Sinica*, 29(1): 8–14. [赵建周, 吴世昌, 顾言真, 朱国仁, 剧正理, 1996. 小菜蛾抗药性治理对策研究. 中国农业科学, 29(1): 8–14.]