

低氧对 PH_3 抗性米象和谷蠹的控制作用研究

张涛,田琳,伍祎,汪中明,贺培欢,郑丹,曹阳

(国家粮食局科学研究院,北京 100037)

摘要:针对米象 *Sitophilus oryzae*(Linné)和谷蠹 *Rhizopertha dominica*(Fabricius)等主要储粮害虫对 PH_3 抗性越来越高,单一使用 PH_3 防治难度加大等问题,对 2% 和 5% 氧浓度环境控制不同 PH_3 抗性米象和谷蠹成虫及 F1 代的效果进行了实验室验证。结果表明:氧气浓度为 2% 时, PH_3 抗性的米象和谷蠹成虫在 6 d 内全部死亡,无 F1 代出现;氧气浓度为 5% 时,28 d 后 PH_3 抗性米象和谷蠹成虫的死亡率小于 50%,抗性谷蠹和米象均无 F1 代出现。

关键词:低氧; PH_3 抗性;储粮害虫;控制

中图分类号:S 379.5 文献标识码:A 文章编号:1007-7561(2016)02-0090-03

Effect of hypoxia on phosphine resistance of *sitophilus oryzae*(linné) and *rhizopertha dominica*(fabricius)

ZHANG Tao, TIAN Lin, WU Yi, WANG Zhong-ming, HE Pei-huan, ZHENG Dan, CAO Yang

(Academy of State Administration of Grain, Beijing 100037)

Abstract: Phosphine resistance of main stored grain insects such as *Rhizopertha dominica*(Fabricius) and *Sitophilus oryzae*(Linné) increased and, controlling insects by only PH_3 was more difficulty than ever. Low oxygen concentrations were used to control lesser grain borer and rice weevil and offspring with different resistance level to phosphine. The results showed that lesser grain borer and rice weevil adult can be all killed in 2% oxygen concentrations within 6 days, without offspring, lesser grain borer and rice weevil adult can be killed less than 50% in 5% oxygen concentrations after 28 days, without offspring.

Key words: hypoxia; phosphine resistance; stored grain insects; control

磷化氢(PH_3)具有高毒力,低残留,使用方便等特点,已使用 60 多年,但从目前的物质资源状况来看,在当今和以后的储藏物保护,尤其是储粮熏蒸杀虫中,磷化氢仍将是主要的熏蒸剂^[1]。由于长期使用和不科学合理的应用,主要储粮害虫对磷化氢产生了十分严重的抗性。截止到 2004 年,我国主要的储粮害虫米象和谷蠹对磷化氢的抗性倍数与 1995 年抗性调查结果比较,分别增加了 10.7% 和 71.2%^[2]。

低氧防治技术是指凭借自然或人工的方法,通过降低环境中氧气的含量,使害虫致死或抑制害虫

生长发育的技术。关于低氧对储粮害虫的作用研究已有报道,如 Spratt 等发现,在低氧环境中,米象的整个发育历期会被延长 10~11 天^[3];曹阳等发现,在 5%~10% 低氧环境条件下,储粮害虫的生长发育会受到严重的抑制^[4]。低氧用于对磷化氢产生抗性的储粮害虫的作用尚缺乏研究。本实验研究 PH_3 抗性米象和谷蠹对低氧耐受能力,以探讨磷化氢抗性储粮害虫对低氧的交互抗性,为米象和谷蠹防治提供参考。

1 材料与方法

1.1 试虫

供试的米象和谷蠹从全国各地采集,并在适宜条件下培养多代,实验前采用 FAO 方法进行抗性测

收稿日期:2015-08-06

基金项目:国家粮食公益专项(201513002)

作者简介:张涛,1982 年出生,男,助理研究员。

通讯作者:曹阳,1958 年出生,男,教授。

定,结果见表1。

表1 抗性系数检测结果

编号	虫种	采集地点	缩写	抗性倍数	抗性程度
1	谷蠹	安徽	RDD	10.6	*
2	谷蠹	四川	RDZ	63.8	**
3	谷蠹	成都	RDG	596.0	***
4	米象	重庆	SOD	12.4	*
5	米象	四川	SOZ	75.8	**
6	米象	北京	SOG	708.6	***

注:*表示抵抗;**表示中抗;***表示高抗。

1.2 供试气体

高纯氮气:纯度 0.999 99,北京市北温气体制造厂;高纯氧气:纯度 99%,北京市北温气体制造厂。

1.3 试虫饲料

取无虫霉感染的小麦,用清水淘洗以去除石子、秸秆等杂质。将洗净的小麦置于烘箱中于 60 ± 1 °C 鼓风干燥,取出待冷却后测定其水分含量,如水分含量 $14 \% \pm 1 \%$ 范围内,则放置冰箱中冷藏备用;如不在 $14 \% \pm 1 \%$ 范围内,则进行调水后,冷藏备用。

1.4 仪器设备

1.4.1 主要仪器设备

恒温培养箱:德国 binder 公司;奥氏气体分析仪;北京均方理化科技研究所;气体流量计、快速测氧仪、U 型压力计:河北省武强县同辉仪表厂;电热恒温干燥箱:上海森信实验仪器有限公司;体视显微镜:北京福凯科仪科技有限公司;特制真空干燥器等。

1.4.2 仪器设备连接

仪器设备的连接如图1所示。

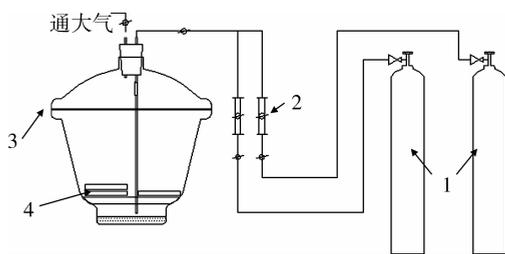


图1 PH₃ 抗性米象和谷蠹低氧耐受性测定装置连接示意图

1 氮气和氧气气源;2 流量控制装置;3 实验容器;4 试虫

1.4.3 干燥器气密性检测

取一特制真空干燥器用去离子水清洗、烘干,待其充分冷却后,用凡士林均匀涂抹所有接口处。在恒温恒压环境中将 U 型压力计连接到真空干燥器上,并用洗耳球向真空干燥器中充入适量空气,使干燥器内为正压 1 000 Pa 左右,待压力稳定后记录压力值,24 h 后,若压力无变化,此特制真空干燥

器即可用于实验。

1.4.4 氧气浓度调节

氮气流量设定为一定值,调节氧气的流量,用奥氏气体分析仪检测混合气体的氧气浓度,当混合气体氧气浓度为预先设置的目标浓度时,用快速测氧仪检测该混合气体的氧气浓度以校准快速测氧仪,并记录下连接氮气钢瓶和氧气钢瓶的气体流量流量计的读数。设定好气体流量计后,开始向符合气密性要求的特制干燥器中通入混合气体,同时用快速测氧仪检测真空干燥器出口处氧气浓度,当出口氧气浓度达到设定值,停止充气并关闭阀门。

1.4.5 温湿度控制

温度控制采用德国 binder 培养箱;依据饱和盐溶液的平衡相对湿度表,配制 30 °C 时所需平衡相对湿度的饱和盐溶液,置于真空干燥器底部,以调节湿度。

1.5 试验方法

1.5.1 试虫标准化培养

挑取米象和谷蠹成虫各 500 头,放入洗净烘干的饲养瓶中,加入约 150 g 饲料后于 30 ± 1 °C, $75 \% \pm 5 \%$ RH 的培养箱中培养。每隔三天挑出成虫于另一瓶中,并加上新鲜饲料,原培养瓶及饲料放回培养箱培养。连续扩大培养 1 月左右,以获得足够数量且虫龄基本一致的米象和谷蠹成虫。

1.5.2 低氧环境下抗性成虫的处理与观察

将进行过预处理的培养皿($\Phi 7$ mm)制成试虫笼,每个虫笼中加 5 g 饲料和羽化 2 天活跃的成虫 50 头。每 3 个试虫笼为 1 组进行低氧处理。每 24 h 取出虫笼进行结果检查;检查方法为在体视显微镜下用毛笔逐个碰触,仍不活动者判定为死亡。

1.5.3 低氧环境下抗性成虫繁殖力的观察

低氧处理后,将饲料中的成虫筛出,分别放入培养瓶中在 30 ± 1 °C, $75 \% \pm 5 \%$ RH 条件下培养 30 d,检查羽化的子代成虫数量。

1.5.4 数据处理

采用 Excel 和 SAS 数据处理软件对试验结果进行分析。

2 结果与分析

2.1 低氧对不同抗性谷蠹和米象成虫控制

从表2可看出,氧气浓度 2 % 条件下,可以很好的控制抗性谷蠹和米象成虫,在 6 d 内可将低抗、中抗、高抗米象和谷蠹成虫 100 % 杀死;氧气浓度 5% 条件下,对不同抗性米象和谷蠹成虫的控制效果较差,连续处理 28 d,低抗、中抗、高抗米象和谷蠹成虫的死亡率未超过 50%。

表2 低氧条件下不同抗性储粮害虫成虫的死亡率 %

试虫种类	抗性程度	校正死亡率			
		CK	处理(2%氧浓度,6 d)	CK	处理(5%氧浓度,28 d)
谷蠹	低抗	4.7±1.4	100.0±0.0	8.0±1.6	8.7±3.8
	中抗	6.7±2.4	100.0±0.0	8.7±1.5	12.7±1.1
	高抗	6.0±4.1	100.0±0.0	6.0±1.6	6.7±2.0
米象	低抗	5.0±2.4	100.0±0.0	8.7±2.4	33.1±15.3
	中抗	3.3±1.1	100.0±0.0	4.0±1.9	45.3±18.5
	高抗	0.7±0.5	100.0±0.0	0.7±0.5	17.3±7.9

2.2 低氧对不同抗性谷蠹和米象 F1 代的控制

从表3可看出,氧气浓度2%条件下,低抗、中抗、高抗米象和谷蠹成虫均无F1代出现;氧气浓度5%条件下,低抗、中抗和高抗谷蠹成虫均无F1代出现,但低抗、中抗和高抗米象成虫均有少量F1代试虫成虫出现。

表3 低氧条件下不同抗性储粮害虫 F1 数量 %

试虫种类	抗性程度	F1代试虫数量/头			
		CK	处理(2%氧浓度,35 d)	CK	处理(5%氧浓度,70 d)
谷蠹	低抗	71	0	182	0
	中抗	96	0	212	0
	高抗	132	0	186	0
米象	低抗	10	0	106	5
	中抗	4	0	62	3
	高抗	3	0	191	1

3 讨论与结论

在我国,主要储粮害虫对磷化氢产生了十分严重的抗性,2004年全国主要储粮害虫92个虫样中高抗性虫样比例已经达到28.2%,且主要为锈赤扁谷盗、谷蠹和米象^[2]。国际上,澳大利亚、孟加拉、美国、印度等国家的储粮害虫也对磷化氢产生了严重抗药性问题^[5]。储粮害虫对磷化氢的抗性问题的威胁到磷化氢的继续使用^[6]。

大量的实验证明,磷化氢和低氧的杀虫机理不同,磷化氢对害虫的作用机理主要集中在与呼吸链有关机制^[7]、与过氧化氢酶有关机制^[8-10]、氧自由基机制^[11]及与其他有关酶^[12-14]作用等几个方面^[15];低氧对害虫的作用机理主要表现在生理和生化两个方面,生理作用主要是抑制害虫的呼吸速率,使害虫窒息死亡;生化方面主要是干扰害虫的能量代谢过程,造成细胞内呼吸缺氧,产生大量乳酸,使细胞酸中毒、破坏线粒体^[4]。

本实验结果表明,低氧对不同抗性的米象和谷

蠹成虫控制效果明显,氧气浓度2%条件下,6d内可100%杀死低抗、中抗、高抗米象和谷蠹成虫及F1代;氧气浓度5%条件下,28d内不能100%杀死低抗、中抗、高抗米象和谷蠹成虫,但可以有效控制其F1的产生。

参考文献:

[1]王殿轩,吴若旻,张晓琳,曹阳.不同磷化氢抗性的米象对多杀菌素的敏感性比较[J].中国粮油学报,2012(8):81-84.

[2]严晓平,黎万武,刘作伟,覃章贵,吴秀琼,宋永成,沈兆鹏.我国主要储粮害虫抗性调查研究[J].粮食储藏,2004,33(4):17-19,25.

[3]Spratt E C. Some effects of a mixture of oxygen, Carbon Dioxide and Nitrogen in ratio 1:8 on the oviposition and development of Sitophilus Zeamais Mots[J]. Stored Prod. Res., 1979(15):73-80

[4]吴子丹,曹阳,等.绿色生态低碳储粮新技术[M].北京:中国科学技术出版社,2011:57.

[5]Mills K A. Phosphins dosages for the control of resistance strains of insects. In: GASGA Seminar on fumigation technology in developing countries. TDRI, Slough, 1986. 119-131

[6]梁权. 迎接害虫对磷化氢抗性的挑战[J]. 粮食储藏, 1994(1):1-8.

[7]Chefurka W, Kashi K P, Bond E J. The effect of phosphine on electron transport in mitochondria [J]. Pestic. Biochem Physiol, 1976(6):65-84.

[8]Bond E J. The action of fumigants of insects IV, The effect of oxygen on the toxicity of fumigants to insects [J]. Can J Bichen Physiol, 1963,41,993.

[9]Price N R, Mill K A, Humphris L A. Phosphine toxicity and catalase activity in susceptible and resistant strains of the lesser grain borer [J]. Comp Biochem Physiol, 1982,73:411-413.

[10]Price N R, Dance S J. Some biochemical aspects of phosphine action and resistance in three species of stored product beetles [J]. Comp Biochem Physiol, 1983,76:277-281.

[11]Nakakita H. The mode of action of phosphine [J]. J Pestic Sci, 1987(12):199-309.

[12]谢遵逸,贾宝琦,何凤琴.米象对磷化氢抗性机理的初步研究[J].粮食储藏,1986(4):1-7.

[13]Rajak R L, Hewlett P S. Effect of some synergists on the insecticidal potency of phosphine [J]. J Stored Prod Res, 1971(7):15-19.

[14]Chaudhry M Q, Price N R. Comparison of the oxidant damage induced by phosphine and the uptake and tracheal exchange of ³²P-radiolabelled phosphine in the susceptible and resistant strains of Rhyzopertha dominica (F.) [J]. Pestic Biochem Physiol, 1992,42:167-179.

[15]曹阳,宋翼,孙冠英,等.磷化氢毒理学研究综述[J].郑州工程学院学报,2002,23(2):84-88