

安徽省棉田马唐对草甘膦的抗药性研究

朱加保,路献勇,李淑英,刘方志,程福如

(安徽省农业科学院棉花研究所/国家棉花产业技术体系皖北试验站,安徽安庆 246003)

摘要:为明确安徽省不同生态区棉田马唐对草甘膦的抗药性水平,采用培养皿种子检测法、整株植株测定法和症状级别法测定池州市、安庆市、芜湖市、滁州市、蚌埠市、阜阳市等地共9个点马唐对草甘膦的抗药性水平。3种检测方法结果均表明:安徽安庆市大观区海口镇皖河农场马唐相对抗药性倍数最高,抗药性指数分别为3.23、3.52和4.91;培养皿种子检测法和整株植物测定法检测的结果基本一致,而使用症状级别法检测的马唐的相对抗药性倍数略高于其他2种方法。

关键词:马唐;草甘膦;抗药性水平;棉田

中图分类号:S451.1

文献标志码:A

论文编号:casb16070114

Resistance of *Digitaria sanguinalis* to Glyphosate in Cotton Fields of Anhui Province

Zhu Jiabao, Lu Xianyong, Li Shuying, Liu Fangzhi, Cheng Furu

(Cotton Research Institute Anhui Academy of Agricultural Sciences/

Anqing Branch of National Cotton Improvement Center, Anqing Anhui 246003)

Abstract: The objective is to clarify the resistance level of *Digitaria sanguinalis* collected from cotton fields to glyphosate in Anhui Province. The dish seed detection, the whole plant assays and the visual observation method were used to study the resistance levels of *Digitaria sanguinalis* to glyphosate in 9 areas like Chizhou City, Anqing City, Wuhu City, Chuzhou City, Bengbu City, Fuyang City and etc. in Anhui Province. The three detection methods showed that *Digitaria sanguinalis* populations from the collecting site of Haikou Town, Anqing City, had the highest resistance, with a resistance index of 3.23, 3.52 and 4.91, respectively. The dish seed detection and whole plant assays had the same resistance tendencies. However, the resistance levels obtained by using the visual observation method were slightly higher than the other two methods.

Key words: *Digitaria sanguinalis*; glyphosate; resistance level; cotton field

0 引言

中国棉田杂草种类众多,发生频率高,每年危害面积约占棉花总种植面积的67%,造成产量损失15%左右^[1-3]。马唐(*Digitaria sanguinalis* L.)属禾本科一年生草本植物,在全国各地均有发生,是中国棉田主要恶性杂草之一,对棉花的危害程度大,防治较为困难,严重危害了中国的棉花生产^[4-6]。草甘膦是美国孟山都公司研发的一种内吸传导性灭生性除草剂,自20世纪70年

代商品化以来,由于其独特的作用方式及转基因抗草甘膦作物的大面积种植,其应用范围和使用量不断扩大,目前已成为全球用量最大的除草剂^[7]。然而由于过度依赖和长期使用草甘膦,使得抗草甘膦杂草种类迅速增加。1996年第一种抗草甘膦杂草瑞士黑麦草(*Lolium rigidum*)在澳大利亚被发现,该杂草对草甘膦的抗性达到11倍^[8],自此杂草对草甘膦不易产生抗药性的理论被打破。截至2015年,全球20多个国家和地

基金项目:安徽省农业科学院院长青年创新基金项目“安徽省农田杂草马唐对草甘膦的抗性研究”(15B0736);安徽省油菜棉花产业技术体系岗位专家经费(程福如专家)。

第一作者简介:朱加保,男,1976年出生,助理研究员,硕士,主要从事棉花杂草综合防治及转基因棉花安全评价等方面的研究。通信地址:246003 安徽省安庆市迎江区华圣路21号 安徽省农业科学院棉花研究所, Tel:0556-5200435, E-mail:13955611798@139.com。

通讯作者:程福如,男,1962年出生,研究员,主要从事棉花病虫害综合防治技术研究。通信地址:246003 安徽省安庆市迎江区华圣路21号 安徽省农业科学院棉花研究所, Tel:0556-5200435, E-mail:ahtcheng@tom.com。

收稿日期:2016-07-22, **修回日期:**2016-10-13。

区发现了35种抗草甘膦杂草(<http://weedscience.org/summary/moa.aspx?MOAID=12>),其中包括2006年在巴西、巴拉圭发现抗草甘膦的马唐^[9-10]。

在中国,抗草甘膦的杂草也开始出现,2005年宋小玲等^[11]报道在中国浙江地区发现了抗草甘膦的小蓬草(*Conyza Canadensis*)。刘延等^[12]通过研究施用草甘膦对北京麦田田旋花体内莽草酸含量的影响,证实了中国田旋花已对草甘膦产生了抗药性。张猛^[13]认为与EPSPS活性相关的区域基因序列发生了定点突变,从而导致了田旋花对草甘膦耐药性的增加。杨彩宏等^[14]利用整株测定法测定广东省7个点牛筋草对草甘膦的抗药性水平,发现部分果园或菜田田埂牛筋草对草甘膦已产生不同程度的抗药性。未来随着草甘膦应用的进一步增大,抗草甘膦杂草产生的几率将会大大增加。目前中国已发现了小蓬草、田旋花和牛筋草对草

甘膦产生了不同程度的抗药性,但尚未发现有关马唐对草甘膦抗性的研究报道。本研究旨在摸清安徽省沿江棉区棉田马唐对草甘膦的抗药性水平,为延缓抗药性杂草的发展、治理抗性杂草提供理论依据。

1 材料与方法

试验于2015年6月至2016年5月在安徽省农业科学院棉花研究所安庆试验基地完成。

1.1 供试材料及药剂

1.1.1 供试马唐种子 于2014年10月在安庆市望江县、安庆市宿松县、池州市东至县等地选择使用草甘膦较频繁的棉田,采集成熟的马唐种子(见表1)。马唐种子采集后在室温下自然风干后,脱壳过筛后放入方形种子袋中,置于种子储存柜中保存。选取籽粒饱满的马唐种子用于试验。

1.1.2 供试药剂 41%草甘膦异丙胺盐水剂(美国孟山

表1 马唐种群及采集时间地点

| 编号 | 马唐种群 | 采集年份 | 采集地点 |
|----|--------|------|-------------------|
| 1 | 东至 | 2014 | 大渡口镇安全村 |
| 2 | 宿松 | 2014 | 复兴镇王洲村 |
| 3 | 望江 | 2014 | 杨湾镇杨湾村 |
| 4 | 大观区 | 2014 | 海口镇皖河农场 |
| 5 | 安庆棉花基地 | 2014 | 安徽省农业科学院棉花研究所安庆基地 |
| 6 | 无为 | 2014 | 牛埠镇青山村 |
| 7 | 固镇 | 2014 | 石湖乡陡沟村 |
| 8 | 全椒 | 2014 | 全椒县棉花原种总场 |
| 9 | 阜阳颍东区 | 2014 | 冉庙乡金地来棉花种植专业合作社 |
| 10 | 敏感种群 | 2014 | 安庆市宜秀区大龙山镇大龙山山腰 |

都公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 培养皿测定法检测不同地区马唐种群对草甘膦的抗性水平 选取成熟且饱满度一致的种子,先用质量分数为0.3%的高锰酸钾溶液浸泡消毒10~15 min,然后用无菌水清洗3次。然后放入垫有2层滤纸的培养皿中,每个培养皿放入100粒马唐种子,置于光照培养箱内催芽,培养周期和温度设为白天30℃ 12 h、黑夜25℃ 12 h,当种子露白时可用于试验。取41%的草甘膦异丙胺盐水剂按草甘膦的有效成分0、10、20、40、80、160、320 mg/L配制草甘膦浓度梯度溶液,每个浓度设置6个重复。在直径90 mm的培养皿内放2层滤纸,每皿均匀放置20粒已露白的马唐种子,然后加入5 mL草甘膦稀释液。放入光照培养箱中,培养周期和

温度设为白天30℃ 12 h、黑夜25℃ 12 h,每天补充适量清水,以保持皿内湿度,以清水为对照。连续培养7天后测量马唐胚芽鞘的长度。

1.2.2 整株植物测定法检测不同地区马唐种群对草甘膦的抗性水平 选取成熟且饱满度一致的马唐种子,用质量分数为0.3%的高锰酸钾溶液浸泡消毒10~15 min,用无菌水清洗3次。取田间表层土壤在120℃干燥箱内烘6 h,灭活土壤内杂草种子,将表层土和有机质按体积比3:1混合后装入直径为10 cm、高8 cm的塑料花钵中,用清水将土壤完全浇透后,均匀撒入100粒左右的马唐种子,再盖一层薄土。放入人工气候室内,培养周期和温度设为白天30℃ 14 h、黑夜25℃ 10 h,并及时浇水。当马唐长至2~3叶期时移栽至外径25 cm、高14 cm的塑料花盆内;每盆栽种20棵长势

一致的马唐幼苗,4~5叶期时进行1次间苗,保留6株长势较为一致的马唐幼苗。取41%草甘膦异丙胺盐水剂按草甘膦的有效成分0、35、70、140、280、560、1120、2240、4480、8960 g a.i./hm²配制草甘膦浓度梯度溶液。每个处理6次重复。施药后7天记录每个处理马唐的症状级别(见表2),施药后14天剪取地上部分称量鲜物质质量。

1.3 数据分析

使用SPSS软件进行数据统计,求出毒力回归方程,根据毒力回归方程计算抑制中浓度EC₅₀及抑制中量ED₅₀,按下列公式求出抗药性指数。该值越大,表明抗药性水平越高。抗药性指数的计算见公式(1)。

$$\text{抗药性指数} = \frac{\text{抗性生物型 } ED_{50}(EC_{50})}{\text{敏感生物型 } ED_{50}(EC_{50})} \dots\dots\dots (1)$$

表2 草甘膦对马唐毒害症状分级标准

| 级别 | 杂草症状 |
|----|--|
| 0 | 无症状 |
| 1 | 心叶轻微萎蔫 |
| 2 | 叶片从叶尖开始红褐化卷曲,部分叶片出现枯斑,枯叶面积为20%~40%。 |
| 3 | 部分叶片红褐化卷曲,植株整体褪绿红褐化,枯叶面积为40%~70%,植株生长受到抑制,并有萎缩的趋势。 |
| 4 | 植株叶片红褐化严重,枯叶面积达到70%以上,植株萎蔫,生长停滞。 |
| 5 | 植株严重萎蔫,枯死面积达到95%以上,或整株死亡。 |

2 结果与分析

2.1 不同马唐种群对草甘膦的抗药性水平

表3表明,以安庆市宜秀区大龙山镇大龙山山腰的马唐种群为相对敏感种群作为对照,采集的其它地方的种群的相对抗药性倍数在1.03~3.23之间。整株植物测定法(鲜重抑制率)测定结果(表4)表明相对抗药性倍数在1.09~3.52之间。而通过症状级别法表明不同地方采集的马唐种群的相对抗药性倍数在1.16~4.91之间(表5)。这3种检测方法结果均表明安徽安庆市大观区海口镇皖河农场马唐种群相对抗药性倍数最高,培养皿种子检测法和整株植物测定法(鲜重抑制率)检测的结果基本一致,而使用症状级别法检测的马唐种群的相对抗药性倍数略高于其他2种方法。此

外,整株植物测定法(鲜重抑制率)测定结果表明,安庆市大观区海口镇的马唐种群对草甘膦的抗性程度最高,ED₅₀为808.164 g a.i./hm²,没有超过田间推荐剂量(900~1200 g a.i./hm²)。这表明目前采集的安徽9个地点的马唐种群对草甘膦的抗性程度较低,且在推荐剂量下可有效防除。而使用症状级别法测定的结果表明大观区海口镇马唐种群的ED₅₀已达到1959.369 a.i./hm²,远远超过田间推荐剂量(900~1200 g a.i./hm²)。但由于症状级别法的局限性,容易由于个人主观判断造成一定的误差,因此测定的ED₅₀可能会高于整株植物测定法。

3 讨论与结论

草甘膦在中国使用已有40余年,是中国农药产品

表3 培养皿检测法检测不同马唐种群对草甘膦的抗药性水平

| 马唐生物型 | 毒力回归方程 | 相关系数r | 抑制中浓度EC ₅₀ /(mg/L) | 95%置信限 | 抗药性指数 |
|----------|------------------|--------|-------------------------------|-----------------|-------|
| 东至 | Y=1.3392+1.5902X | 0.9899 | 207.885 | 167.412~273.170 | 3.16 |
| 宿松 | Y=2.6864+1.0433X | 0.9898 | 165.681 | 125.613~238.254 | 2.52 |
| 望江 | Y=2.0665+1.3183X | 0.9884 | 166.967 | 133.462~220.511 | 2.54 |
| 大观区 | Y=2.8329+0.9332X | 0.9898 | 212.716 | 152.357~341.435 | 3.23 |
| 安徽省棉花所基地 | Y=2.2612+1.2162X | 0.9959 | 180.074 | 140.298~248.135 | 2.74 |
| 无为 | Y=1.6443+1.5684X | 0.9947 | 139.126 | 115.359~173.329 | 2.11 |
| 固镇 | Y=2.2535+1.4275X | 0.9899 | 82.665 | 68.796~100.754 | 1.26 |
| 全椒 | Y=2.1176+1.5797X | 0.9951 | 67.768 | 57.454~80.377 | 1.03 |
| 颍东区 | Y=1.9044+1.6384X | 0.9924 | 76.606 | 65.075~90.913 | 1.16 |
| 敏感种群 | Y=2.2837+1.4944X | 0.9960 | 65.798 | 55.336~78.624 | 1.00 |

表4 整株植物测定法测定不同马唐种群对草甘膦的抗药性水平(鲜重抑制率)

| 马唐生物型 | 毒力回归方程 | 相关系数 r | 抑制中量 $ED_{50}/(g/hm^2)$ | 95%置信限 | 抗药性指数 |
|----------|---------------------|----------|-------------------------|------------------|-------|
| 东至 | $Y=1.8212+1.1294X$ | 0.9503 | 499.630 | 351.878~708.821 | 2.18 |
| 宿松 | $Y=1.3354+1.3512X$ | 0.9713 | 459.624 | 353.200~595.938 | 2.00 |
| 望江 | $Y=0.9846+1.5121X$ | 0.9417 | 437.482 | 336.977~564.543 | 1.91 |
| 大观区 | $Y=-1.3064+2.2747X$ | 0.9655 | 808.164 | 634.784~1033.627 | 3.52 |
| 安徽省棉花所基地 | $Y=1.6968+1.1599X$ | 0.9924 | 634.238 | 532.586~756.787 | 2.77 |
| 无为 | $Y=1.7154+1.3033X$ | 0.9778 | 360.410 | 294.309~437.802 | 1.57 |
| 固镇 | $Y=1.3384+1.5149X$ | 0.9764 | 250.901 | 165.122~365.810 | 1.09 |
| 全椒 | $Y=0.5946+1.7045X$ | 0.9724 | 424.460 | 321.663~555.052 | 1.85 |
| 颍东区 | $Y=0.2131+1.8701X$ | 0.9756 | 345.613 | 298.776~398.821 | 1.51 |
| 敏感种群 | $Y=1.3970+1.5233X$ | 0.9723 | 229.309 | 190.807~272.635 | 1.00 |

表5 整株植物测定法测定不同马唐种群对草甘膦的抗药性水平(症状级别法)

| 马唐生物型 | 毒力回归方程 | 相关系数 r | 抑制中量 $ED_{50}/(g/hm^2)$ | 95%置信限 | 抗药性指数 |
|----------|--------------------|----------|-------------------------|-------------------|-------|
| 东至 | $Y=0.5977+1.4800X$ | 0.9938 | 1148.277 | 963.639~1379.766 | 2.88 |
| 宿松 | $Y=1.0058+1.2841X$ | 0.9940 | 1245.379 | 1047.631~1494.426 | 3.12 |
| 望江 | $Y=0.8145+1.4358X$ | 0.9960 | 941.771 | 794.040~1123.074 | 2.36 |
| 大观区 | $Y=0.6379+1.3956X$ | 0.9878 | 1959.369 | 1595.710~2461.343 | 4.91 |
| 安徽省棉花所基地 | $Y=0.8187+1.5099X$ | 0.9923 | 643.259 | 546.162~758.410 | 1.61 |
| 无为 | $Y=0.2174+1.7377X$ | 0.9552 | 674.374 | 511.001~894.757 | 1.69 |
| 固镇 | $Y=1.3452+1.3500X$ | 0.9747 | 468.428 | 358.559~610.208 | 1.17 |
| 全椒 | $Y=0.8847+1.4458X$ | 0.9938 | 686.478 | 586.466~805.118 | 1.72 |
| 颍东区 | $Y=1.0478+1.4719X$ | 0.9613 | 463.806 | 334.412~639.681 | 1.16 |
| 敏感种群 | $Y=0.7295+1.6321X$ | 0.9869 | 398.794 | 343.250~462.491 | 1.00 |

中出口最大的种类之一,由于作用方式独特,且土壤残留量较低,因此1996年之前一直没有关于草甘膦抗性杂草的报道^[15]。从1997年到2002年抗草甘膦杂草新种类的发现较少,6年之间仅仅发现了牛筋草、多花黑麦草和小蓬草对草甘膦产生了抗性^[16-18]。但从2003年开始,抗草甘膦杂草发展迅猛,每年都以2~3种的速度迅速增长^[19]。

培养皿种子检测法、整株植物测定法和症状级别法是目前常用的3种杂草抗药性检测方法,从本实验测定结果可知,3种方法测定结果具有基本一致的趋势。但由于症状级别界限不太明显,且各种杂草受草甘膦处理后表现出的症状也不甚相同,因此划分症状级别时带有一定的主观性。因此为了增加该方法的准确性,建议增加重复的次数。

Beckie等^[20]于2012年提出了杂草抗药性水平等级分法,李玉等^[21]参照该分法设定了马唐对草甘膦的抗药性分级标准,他以 $RI(\text{Resistance index}) \leq 2$ 为敏感阶

段, $2 < RI \leq 5$ 为低水平抗性阶段, $5 < RI \leq 10$ 为中等水平抗性阶段。根据该标准,通过整株植物测定法检测结果来分析,只有东至、大观区和安庆棉花所基地的马唐种群处于低水平抗性,其余5个地区的马唐种群处于敏感阶段。李玉等^[21]虽然对长江中下游棉田马唐对草甘膦的抗药性进行了初步研究,但选择的地点大部分是湖南省的马唐种群,而安徽省只有3个点,且选择的不是安徽省棉花主产区,因此并不能代表安徽省马唐种群对草甘膦的实际抗药性水平。而本试验选择了安徽沿江棉区6个点、江淮棉区2个点和淮北棉区1个点,基本上覆盖了安徽省的主要棉花种植区域,因此可以初步揭示安徽省马唐种群对草甘膦的抗药性水平。

本试验使用3种方法测定了安徽省具有长期使用草甘膦历史的棉田马唐种群对草甘膦的抗药性水平,结果证实了安徽省安庆市大观区皖河农场马唐种群相对抗药性倍数最高,但目前尚未超过草甘膦田间推荐剂量。虽然目前监测到的安徽省各地区的马唐对草甘

膦的抗药性水平较低,但从长远来看,应该尽早加强对抗性马唐的治理工作,以确保草甘膦的使用寿命。未来需从杂草马唐对草甘膦的吸收、传递机理上进行深入研究。

参考文献

- [1] 李扬汉.中国杂草志[M].北京:中国农业出版社,1998:1216-1217.
- [2] 马小艳,马艳,彭军,等.中国棉田杂草研究现状与发展趋势[J].棉花学报,2010,11(4):372-380.
- [3] 王新玲,马小艳,马艳,等.杂草与棉花的竞争作用[J].棉花学报,2015,27(5):474-480.
- [4] 李淑英,马艳,朱加保,等.安徽省沿江棉区移栽棉田杂草发生规律及其化学防除研究[J].中国棉花,2010,37(6):8-12.
- [5] 朱加保,李淑英,程福如,等.安徽省沿江棉区两种栽培方式下棉田杂草发生与危害研究[J].安徽农业大学学报,2011,38(4):617-622.
- [6] 温广月,钱振官,李涛,等.马唐生物学特性初步研究[J].杂草科学,2014,32(2):1-4.
- [7] Yound B. Changes in herbicide use patterns and production practices resulting from glyphosate-resistant crops[J]. Weed Technol, 2006,20(2):301-307.
- [8] Pratley J E, Urwin N, Stanton R, et al. Resistance to glyphosate in *Lolium rigidum* L[J]. Bioevaluation. Weed Science, 1999,47(4):405-411.
- [9] 刘岩,崔海兰,黄红娟,等.抗草甘膦杂草及其抗性机制研究进展[J].农药学报,2008,10(1):10-14.
- [10] 陈景超,张超贤,黄红娟,等.抗草甘膦杂草及其检测方法发展现状[J].植物保护,2011,37(6):44-47.
- [11] Song X L, Wu J J, Qiang S. Establishment of a test method of glyphosate-resistant *Conyza Canadensis* in China[A]. The 20th Asian-Pacific Weed Society Conference Agriculture Publishing: Ho Chi Ming City, 2005:499-504.
- [12] 刘延,张朝贤.草甘膦对田旋花和打碗花体内莽草酸含量的影响[J].杂草科学,2008(2):10-12.
- [13] 张猛,刘延,张朝贤,等.田旋花对草甘膦的耐药性机制[J].植物保护学报,2011,38(6):551-556.
- [14] 杨彩宏,田兴山,冯莉,等.牛筋草对草甘膦的抗药性[J].中国农业科学,2012,45(10):2093-2098.
- [15] Powles S B, Holtum J A M. Resistance to glyphosate, in herbicide resistance in plants: biology and biochemistry[M]. Lewis, Boca Raton, FL, 1994:229-242.
- [16] Tran M, Baerson S, Brinker R. Characterization of Glyphosate Resistant *Eleusine indica* Biotypes from Malaysia[A]. Proceedings of the 17th Asia-Pacific Weed Science Society Conference. Bangkok, 1999:527-536.
- [17] Vangessel M J. Glyphosate-resistant horseweed from Delaware[J]. Weed Science, 2001,49(6):703-705.
- [18] Perez A, Kogan M. Glyphosate-resistant *Lolium multiflorum* in Chilean Orchards[J]. Weed Research, 2003,43(1):12-19.
- [19] 陈景超.大豆田主要杂草对草甘膦的敏感性检测方法研究[D].北京:中国农业科学院,2012.
- [20] Beckie H J, Tardif F J. Herbicide cross resistance in weeds[J]. Crop Protection,2012,35:15-28.
- [21] 李玉,杨浩娜,柏连阳.长江中下游棉田马唐对草甘膦的抗药性初步研究[J].棉花学报,2016,28(3):300-306.