

小菜蛾对苦皮藤素抗性选育及交互抗性测定

李二虎¹, 吴文君^{1*}, 陈之浩², 李凤良², 李忠英²

(1. 西北农林科技大学农药研究所, 陕西杨凌 712100; 2. 贵州省农业科学院植物保护研究所, 贵阳 550006)

摘要: 敏感小菜蛾 *Plutella xylostella* (L.) 经苦皮藤素 20 代的抗性选育, 其抗性增长 21.57 倍。选育的小菜蛾抗性品系对杀虫双、杀螟丹和叶蝉散分别有 4.63、4.11 和 3.71 倍的交互抗性; 对溴氰菊酯、氯菊酯、氯氰菊酯分别有 0.22、0.01 和 0.26 倍的负交互抗性。高抗杀螟丹、杀虫双小菜蛾品系对苦皮藤素无明显交互抗性, 而高抗溴氰菊酯小菜蛾品系对苦皮藤素有 3.61 倍的交互抗性。

关键词: 小菜蛾; 苦皮藤素; 抗药性

中图分类号: Q965.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 0454-6296 (2003) 01-0018-04

Selection for celangulin resistance and cross-resistance in the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.)

LI Er-Hu¹, WU Wen-Jun^{1*}, CHEN Zhi-Hao², LI Feng-Liang², LI Zhong-Ying² (1. Institute of Pesticide, Northwest Sci-tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2. Institute of Plant Protection, Guizhou Academy of Agriculture, Guiyang 550006, China)

Abstract: After artificial selection for resistance to 0.2% celangulin EC for 20 generations, resistance of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) fourth instar larvae to this pesticide increased 21.6-fold. The development of resistance was slow initially, faster in the mid-stage, and stable in the later stage. The celangulin-resistant strain had positive cross-resistance to dimehypo, cartap and isoprocarb (R/S was 4.63, 4.11 and 3.71 respectively), and negative cross-resistance to deltamethrin, cypermethrin and permecthrin (R/S was 0.22, 0.26 and 0.01 respectively). The cartap-, dimehypo- and deltamethrin-resistant strains had 1.06-, 1.76- and 3.61-fold resistance to 0.2% celangulin EC, respectively.

Key words: *Plutella xylostella*; celangulin; insecticide resistance

人们普遍认为, 中药不容易对人体的病菌产生抗药性, 植物性杀虫剂也不容易使害虫产生抗药性, 但这仅仅是一种推测。事实上, 除了印楝素及印楝制剂外, 尚无其他植物性杀虫剂抗药性的研究报道。植物杀虫剂 0.2% 苦皮藤素乳油是以苦皮藤根皮提取物为原料, 主成分是苦皮藤素 V, 还包括一些其他化合物。它对槐尺蠖、菜青虫、小菜蛾等有优异的防治效果, 对人畜低毒, 对非靶标生物及环境安全。该乳油 2000 年获准农药临时登记, 已投入批量生产。作为一种植物性杀虫剂, 苦皮藤素是否容易产生抗药性? 是否和现有的杀虫剂有交互抗性? 为此, 我们进行小菜蛾对 0.2% 苦皮藤素乳油抗性选育及交互抗性测定。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫与药剂

供试昆虫: 敏感小菜蛾品系, 选育通过雌雄成虫单独配对, 使其子代的敏感性状发生分离, 用药剂的区分剂量测定其 4 龄幼虫, 选择敏感度高的作为下一代虫种, 继续单配选育。该品系选育 40 余代, 已成为稳定的敏感品系。该品系对敌敌畏、灭多威、溴氰菊酯和杀虫双的敏感度分别为 0.0786、0.0356、0.0222 和 1.8949 $\mu\text{g}/\text{头}$ (韩招久等, 1998), 小菜蛾高抗杀螟丹、杀虫双、溴氰菊酯品系, 分别对三种药剂的抗性倍数大于 35.50、122.8 和 1 163 倍 (程罗根等, 1998; 李凤良等, 1998; 刘传秀等, 1995)。均由贵州省农业科学院植保所

作者简介: 李二虎, 男, 1975 年生, 陕西府谷人, 硕士, 现在天津农药检定所工作

* 通讯联系人 Author for correspondence

收稿日期 Received: 2002-01-16; 接受日期 Accepted: 2002-07-05

提供。

供试药剂：0.2%苦皮藤素乳油（含0.2%苦皮藤素V和少量其他根皮提取物，西北农林科技大学农药研究所研制）；99%杀虫双钠盐（贵州省化工研究院）；98%杀螟丹原粉（日本武田药品工业株式会社）；98%溴氰菊酯原粉（法国罗素·优克福公司）；92%氯氰菊酯原粉；95%氯菊酯原粉；80%敌敌畏乳油（天津农药厂）；90%灭多威原粉（中国科学院动物所）；40%辛硫磷乳油（江苏省连云港市第二农药厂）；99%叶蝉散原粉（成都化学试剂厂）。

1.2 小菜蛾对苦皮藤素的抗性选育

选育虫种为小菜蛾敏感品系4龄初期幼虫（2~3 mg/头），每代汰除70%左右，小菜蛾的饲养采用陈之浩的蛭石萝卜苗饲养方法（陈之浩等，1990）。每隔1~2代测定一次毒力。

毒力测定采用叶片药膜法。将苦皮藤素用蒸馏水稀释成5~6个浓度梯度，将带叶柄的甘蓝叶片浸入30 s后取出，晾干，用湿棉球包住甘蓝叶基部放入罐头瓶中，接入4龄幼虫，每瓶20头，用纱布扎住瓶口，每浓度重复3次，放在温度为25℃，光周期为16/8（L/D）下培养。每隔2天换一次叶片（叶片处理同前）。96 h后检查死亡率。用DPS数据处理系统求出毒力回归曲线和 LC_{50} 。

1.3 交互抗性的测定

1.3.1 苦皮藤素抗性品系对常规杀虫剂的交互抗性：采用联合国粮农组织（FAO）推荐的对小菜蛾抗药性标准测定方法（FAO，1979），试虫为4龄幼虫，体重2~3 mg/头，用点滴法测定。先以CO₂轻度麻醉后，在其胸部背面点滴0.5 μL的药液，点滴处理后的幼虫以甘蓝叶片饲喂，24 h后检查结果（杀虫双48 h后检查）。每次处理均设点滴丙酮为对照，用DPS数据处理系统计算 LD_{50} 。

1.3.2 高抗杀虫双、杀螟丹和溴氰菊酯小菜蛾品系对苦皮藤素的交互抗性：毒力测定方法采用叶片药膜法（同1.2）。

2 结果与分析

2.1 小菜蛾对苦皮藤素的抗性选育

选育前（F₀）苦皮藤素对敏感品系4龄幼虫的 LC_{50} 值为1.51 μg/mL，选育至20代时，选育浓度达15.38 μg/mL，抗性增长了21.57倍（表1）。选育初期抗性发展较慢，从F₀~F₆代抗性仅增长4.70

倍，F₆~F₁₇代是抗性迅速发展期，F₁₇代后抗性基本趋于稳定，抗性发展趋势呈“S”型（图1）。

苦皮藤素对敏感品系的毒力指数基本稳定，室内饲养20代，每5代测定一次毒力，毒力指数分别为1.00、0.60、1.33、1.02和0.80，说明该品系是稳定的敏感品系。

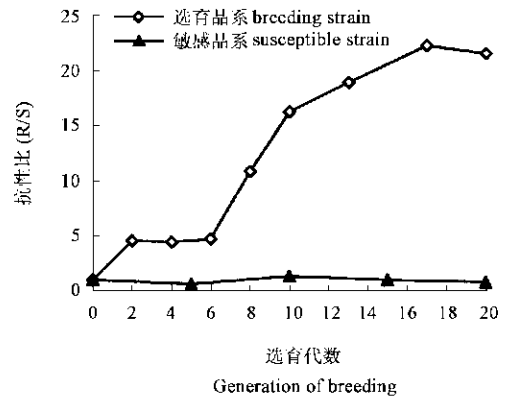


图1 苦皮藤素抗性选育趋势图

Fig.1 Trends in development of resistance to celangulin on the diamondback moth

2.2 苦皮藤素抗性品系对常规杀虫剂的交互抗性

苦皮藤素选育品系F₁₉代以后的4龄初期幼虫（2~3 mg/头）分别测定了对沙蚕毒素类、有机磷类、拟除虫菊酯类和氨基甲酸酯类常用药剂的敏感度，结果如表2所示。

从表3可以看出，苦皮藤素选育品系小菜蛾对沙蚕毒素类杀虫剂杀螟丹和杀虫双有交互抗性，抗性倍数分别为4.11和4.63；对有机磷类杀虫剂辛硫磷、敌敌畏的敏感度和敏感品系相比，差异不明显，抗性倍数分别为1.92和0.98；对氨基甲酸酯类杀虫剂叶蝉散有轻微交互抗性，抗性倍数为3.71。对灭多威的交互抗性不明显；对拟除虫菊酯类溴氰菊酯、氯氰菊酯和氯菊酯有较高的负交互抗性，抗性倍数分别为0.22、0.26和0.01。

2.3 高抗杀虫双、杀螟丹和溴氰菊酯小菜蛾品系对苦皮藤素的交互抗性

以苦皮藤素测定了对杀螟丹、杀虫双和溴氰菊酯产生高度抗性的小菜蛾品系及敏感品系的毒力，结果见表3。

从表3可以看出，沙蚕毒素类杀虫剂杀螟丹、杀虫双对苦皮藤素没有明显的交互抗性，抗性比值分别为1.06和1.76，而拟除虫菊酯类杀虫剂的溴氰菊酯对苦皮藤素有轻度的交互抗性，抗性比值为3.61。

表 1 苦皮藤素对小菜蛾的抗性选育结果

Table 1 The results of artificial selection for resistance to 0.2% celangulin EC in the diamondback moth

选育代数 Generation of breeding	回归方程式 Regression equation	χ^2	S_b	LC ₅₀ (95% 置信限) LC ₅₀ (95% credible limit) ($\mu\text{g/mL}$)	R/S
F ₀	$Y = 4.7956 + 1.1420X$	5.024	0.5013	1.51(1.03 ~ 2.22)	1.00
F ₂	$Y = 4.1194 + 1.0539X$	2.326	0.1675	6.85(5.07 ~ 9.25)	4.54
F ₄	$Y = 3.4368 + 1.8983X$	7.904	0.2238	6.66(5.77 ~ 7.68)	4.42
F ₆	$Y = 4.2130 + 0.9256X$	2.920	0.1235	7.08(5.41 ~ 9.28)	4.70
F ₈	$Y = 3.1082 + 1.5566X$	5.352	0.4731	16.42(13.79 ~ 19.54)	10.88
F ₁₀	$Y = 1.9337 + 2.2074X$	4.671	0.1289	24.50(21.70 ~ 27.66)	16.24
F ₁₃	$Y = 1.1475 + 2.6475X$	5.389	0.6428	28.52(24.56 ~ 33.11)	18.90
F ₁₇	$Y = 2.0864 + 1.9092X$	0.393	0.0722	33.59(27.31 ~ 41.30)	22.27
F ₂₀	$Y = 1.2640 + 2.4704X$	8.489	0.4189	32.53(27.71 ~ 38.19)	21.57

表 2 苦皮藤素选育品系对各类杀虫剂的交互抗性

Table 2 The cross-resistance of the celangulin-resistant strain to several insecticides

药剂 Insecticides	敏感品系的 LD ₅₀ (95% 置信限) LD ₅₀ of susceptible strain (95% CL) ($\mu\text{g/larvae}$)	抗性品系的 LD ₅₀ (95% 置信限) LD ₅₀ of resistant strain (95% CL) ($\mu\text{g/larvae}$)	R/S
杀虫双 dimehypo	1.1195 (0.8381 ~ 1.4954)	5.1814 (4.0949 ~ 6.5563)	4.63
杀螟丹 cartap	0.6025 (0.5341 ~ 0.7208)	2.5504 (2.1157 ~ 3.0744)	4.11
敌敌畏 dichlorvos	0.0508 (0.0382 ~ 0.0676)	0.0973 (0.0813 ~ 0.1165)	1.92
辛硫磷 phoxim	0.0158 (0.0124 ~ 0.0202)	0.0154 (0.0122 ~ 0.0194)	0.98
溴氰菊酯 deltamethrin	0.1190 (0.0751 ~ 0.1884)	0.0267 (0.0225 ~ 0.0315)	0.22
氰氟菊酯 cypermethrin	0.3817 (0.2863 ~ 0.5088)	0.0981 (0.0799 ~ 0.1205)	0.26
氯菊酯 permethrin	0.1351 (0.1005 ~ 0.1815)	0.0013 (0.0012 ~ 0.0016)	0.01
灭多威 methomyl	0.0191 (0.0158 ~ 0.0230)	0.0312 (0.0260 ~ 0.0375)	1.63
叶蝉散 isoprocarb	0.2160 (0.1803 ~ 0.2574)	0.8012 (0.5493 ~ 1.1686)	3.71

表 3 苦皮藤素对几种杀虫剂高抗品系与敏感品系小菜蛾的毒力比较

Table 3 The toxicity of celangulin to several resistant and susceptible strains

品系 Strains	LC ₅₀ (95% 置信限) LC ₅₀ (95% CL) ($\mu\text{g/mL}$)	R/S
溴氰菊酯抗性品系 deltamethrin-resistant strain	5.12 (4.28 ~ 6.11)	3.61
杀虫双抗性品系 dimehypo-resistant strain	2.49 (2.02 ~ 3.07)	1.76
杀螟丹抗性品系 cartap-resistant strain	1.50 (1.23 ~ 1.80)	1.06
敏感品系 susceptible strain	1.42 (1.16 ~ 1.72)	1.00

3 讨论

关于植物杀虫剂的抗药性问题, 国内许多学者借鉴中药的经验, 认为植物性杀虫剂实际上是利用的植物提取物, 是含有多种成分的复杂的混合物, 害虫不容易对其产生抗药性, 但并未见有研究报道

加以证实。国外仅见印楝素室内抗性选育的报道(乐海洋, 1994), 认为小菜蛾难以对印楝素产生抗药性。本项研究经过 20 代对苦皮藤素的汰选, 小菜蛾 4 龄幼虫的 LC₅₀ 值由选育前的 1.51 $\mu\text{g/mL}$ 上升到 32.5 $\mu\text{g/mL}$, 抗性增长 21.57 倍, 在国内首次证明, 害虫对植物杀虫剂同样可以产生抗药性。

国内有一些关于小菜蛾抗性选育的报道, 如冯

夏等(1996)报道 Bt 室内选育 18 代, 抗性增长 35.52 倍。李腾武等(1999)报道阿维菌素室内选育 21 代, 抗性增长 123 倍, 选育至 27 代, 抗性达 812.7 倍。闫艳春等(1997)认为六大类杀虫剂中, 沙蚕毒素类杀虫剂的抗性发展最慢。陈之浩等(1993)对巴丹、杀虫双室内选育至 20 代时, 其抗性分别为 22.67 倍和 26.82 倍。因此, 无论和传统的化学杀虫剂相比, 还是和常用的微生物杀虫剂相比, 小菜蛾对植物杀虫剂苦皮藤素的抗性发展速度是最慢的。

交互抗性的测定结果说明, 抗苦皮藤素的小菜蛾种群对沙蚕毒素类的杀虫剂巴丹、杀虫双及氨基甲酸酯类杀虫剂叶蝉散有一定程度的交互抗性, 而对有机磷杀虫剂敌敌畏、辛硫磷没有交互抗性, 对溴氰菊酯、氯氰菊酯和氯菊酯则呈明显的负交互抗性, 这提示在生产上若小菜蛾产生抗药性后仍可以采用有机磷及拟除虫菊酯类杀虫剂进行防治。同时, 交互抗性的测定结果还说明, 在生产上小菜蛾对沙蚕毒素类杀虫剂产生抗性后可以用苦皮藤素代替防治, 而小菜蛾对拟除虫菊酯类杀虫剂产生抗性后, 不宜用苦皮藤素防治, 因有某种程度的交互抗性。

考虑到田间实际使用的植物杀虫剂一般都是以粗提物而非纯有效成分加工而成, 因此本项研究采用商品化的 0.2% 苦皮藤素乳油来选育小菜蛾的抗药性, 这对于了解小菜蛾对这一植物杀虫剂抗性发生发展及抗性风险评价更符合防治实际。但本项研究无法回答是具体哪一种化合物(有效成分)使害虫产生抗药性。由于植物杀虫剂有效成分的多样性和复杂性, 难以用每一种有效成分分别去进行抗性选育, 但其主成分苦皮藤素 V 进行抗性选育仍是必要的。

参 考 文 献 (References)

- Chen Z H, Liu C X, Li F L, Han Z J, 1990. Initial report on the method for succession reproduction and raising cabbage moth in large scale. *Journal of Guizhou Agriculture Sciences*, (4): 52-53. [陈之浩, 刘传秀, 李凤良, 韩招久, 1990. 小菜蛾继代繁殖大量饲养方法研究初报. 贵州农业科学, (4): 52-53]
- Chen Z H, Liu C X, Li F L, Han Z J, 1993. Development of diamond back moth strains resistant to dimehypo and cartap with reference to the mechanism of resistance. *Acta Entomologica Sinica*, 36 (4): 409-417. [陈之浩, 刘传秀, 李凤良, 韩招久, 1993. 杀虫双和杀螟丹选育对小菜蛾抗药性的形成及其抗性机制. 昆虫学报, 36 (4): 409-417]
- Cheng L G, Li F L, Wang Y C, Chen Z H, 1998. Biochemical genetic mechanism of resistance to cartap in diamondback moth, *Plutella xylostella* L. *Journal of Nanjing Agriculture University*, 21 (3): 36-40. [程罗根, 李凤良, 王荫长, 陈之浩, 1998. 小菜蛾对杀螟丹抗药性的生化遗传研究. 南京农业大学学报, 21 (3): 36-40]
- FAO, 1979. Method for diamond back moth *Plutella xylostella* (L.). *FAO Plant Protection*, 27 (2): 44-46.
- Feng X, Chen H Y, Shuai Y H, Xie Q H, Lu Y C, 1996. A study on the resistance of diamondback moth to *Bacillus thuringiensis* in Guangdong. *Acta Entomologica Sinica*, 39 (3): 238-244. [冯夏, 陈焕瑜, 帅应垣, 谢齐贺, 卢悦昌, 1996. 广东小菜蛾对苏云金杆菌的抗性研究. 昆虫学报, 39 (3): 238-244]
- Han Z J, Li F L, Li Z Y, Chen Z H, 1998. Selection of susceptible strain of diamondback moth to insecticides. *Acta Phytophylacica Sinica*, 25 (4): 355-358. [韩招久, 李凤良, 李忠英, 陈之浩, 1998. 小菜蛾对杀虫药剂敏感品系的选育. 植物保护学报, 25 (4): 355-358]
- Le H Y, 1994. Study on resistance development of diamondback moth laboratory strains to neem and synthesis insecticides. *Translated Collection of Pesticides*, 16 (6): 52-53. [乐海洋译, 1994. 小菜蛾实验室种群对印楝杀虫物质和合成杀虫剂的抗性发展研究. 农药译丛, 16 (6): 52-53]
- Li F L, Cheng L G, Han Z J, Li Z Y, Chen Z H, 1998. Genetic study of dimehypo resistance in diamondback moth *Plutella xylostella* L. *Acta Phytophylacica Sinica*, 25 (4): 345-350. [李凤良, 程罗根, 韩招久, 李忠英, 陈之浩, 1998. 小菜蛾对杀虫双的抗性遗传研究. 植物保护学报, 25 (4): 345-350]
- Li T W, Gao X W, Zheng B Z, 1999. Genetic analysis and cross-resistance of *Plutella xylostella* to avermectins. *Plant Protection*, 25 (6): 12-14. [李腾武, 高希武, 郑炳宗, 1999. 小菜蛾对阿维菌素的抗性遗传分析及交互抗性研究. 植物保护, 25 (6): 12-14]
- Liu C X, Li F L, Han Z J, Chen Z H, 1995. Studies on deltamethrin resistance breeding and its resistant mechanism of diamondback moth. *Acta Phytophylacica Sinica*, 22 (4): 357-372. [刘传秀, 李凤良, 韩招久, 陈之浩, 1995. 小菜蛾对溴氰菊酯抗性选育及其机理. 植物保护学报, 22 (4): 357-372]
- Yan Y C, Qiao C L, Qian C F, 1997. Advance in research on insecticide resistance of *Plutella xylostella* (L.). *Entomological Knowledge*, 34 (5): 310-314. [闫艳春, 乔传令, 钱传范, 1997. 小菜蛾抗药性研究进展. 昆虫知识, 34 (5): 310-314]