

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*

陈之浩 刘传秀 李凤良 韩招久

(贵州省农业科学院植保所, 贵阳 550006)

摘要 用杀虫双和杀螟丹在实验室以点滴法处理小菜蛾 *Plutella xylostella* L. 四龄幼虫, 以连续继代药剂淘汰选育其抗药性。至 35 代, 药剂汰选的小菜蛾对杀虫双和杀螟丹的抗药性较选育前正常品系分别提高了 51 倍和 25 倍。其抗药性的形成发展均呈 S 形, 可认为已成为抗性品系。以有机磷、氨基甲酸酯、拟除虫菊酯及有机氮等 11 种杀虫剂测试抗杀虫双小菜蛾品系和抗杀螟丹小菜蛾品系对常用药剂的敏感度结果表明: 对杀虫双、杀螟丹和杀虫环之间有较严重的正交互抗性; 对敌敌畏、马拉硫磷和杀螟松有轻微交互抗性产生; 对溴氰菊酯、氯氰菊酯、氯菊酯和灭多威、久效威等药剂更加敏感, 呈负交互抗性。用聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE) 法测定表明, 抗药性产生与特异性酯酶的形成有一定关系。用比色法和酸度法测定, 抗性品系的乙酰胆碱酯酶 (AChE) 活性降低, 羧酸酯酶 (CarE) 活性无差异。加增效剂 Pb 和 SV₁ 于四龄幼虫表皮, 对抗杀虫双小菜蛾品系分别有 6.28 及 1.45 倍的增效作用; 对抗杀螟丹小菜蛾品系分别有 4.85 及 1.39 倍的增效作用, 可见多功能氧化酶 (MFO) 为小菜蛾抗杀虫双和抗杀螟丹的重要因子。

关键词 小菜蛾 杀虫双 杀螟丹 抗性

杀虫双是我国研制的农药品种。

小菜蛾 *Plutella xylostella* L. 是世界性的十字花科蔬菜害虫。

本研究主要目的在于通过害虫对农药的选择作用, 使抗性基因得到积累与加强, 逐渐形成有显著抗性的种群和品系, 探讨小菜蛾对杀虫双和杀螟丹形成抗性的规律; 该抗性品系对其它类药剂的交互抗性规律, 并对两种抗药性小菜蛾品系的生化机制进行一些探索, 为延长杀虫双类农药的使用寿命, 制定正确的防治策略, 以期为克服和解决抗药性问题提供理论依据。

材 料 与 方 法

(一) 抗性选育及交互抗性测定

1. 供试药剂

(1) 杀虫双 (Dimehypo) 单钠盐纯品标准样 (贵州省化工研究院)。

(2) 杀螟丹 (Padan) 98% 原粉 (日本武田药品工业株式会社)。

以上为抗性选育用药剂, 下为交互抗性测定药剂。98% 溴氰菊酯、92% 氯氰菊酯、95% 氯菊酯、80% 敌敌畏乳油、90% 杀螟松、95% 马拉硫磷、90% 灭多威、90% 久效威、98% 杀虫环粉。

本文于 1991 年 11 月收到。

* 贵州省科学技术基金资助项目。

在生化实验中得到中国科学院动物研究所冷欣夫、周厚安先生的指导和帮助, 特此致谢。

2. 供试昆虫 供抗性选育用的小菜蛾系采自贵阳市花溪区中曹乡的甘兰地, 经室内饲养 1 代后测定四龄幼虫的 LD_{50} 值, 杀虫双为 0.55 微克/头、杀螟丹为 0.24 微克/头。与武汉市蔬菜研究所提供的小菜蛾敏感种群四龄幼虫 LD_{50} 值, 杀虫双为 1.50 微克/头、杀螟丹为 0.27 微克/头比较, 其比值为 0.37 和 0.89 倍, 证明该供试小菜蛾田间种群对杀虫双和杀螟丹均属敏感种群。

3. 小菜蛾饲养 参照 FAO (1979) 和柯礼道和方菊莲(1981)的饲养方法进行了改进, 用砵石萝卜苗法饲养的小菜蛾可以顺利继代, 各项生物学特性均接近田间正常虫态。饲养条件为室温 $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}$, 光周期 16L:8D。

4. 抗性选育方法 为保证每代抗性选育个体受药的均匀性, 采用点滴法处理。即将四龄幼虫先经 CO_2 轻度麻醉后, 以药剂的 LD_{50} 浓度用微量进样器将 0.5 微升药液分别点到幼虫胸部背面, 每代处理幼虫 2000 头左右, 约淘汰 70%, 将存活的个体作为下一代虫种, 逐代用药剂淘汰选择。每 5 代测定一次 LD_{50} 值, 再用此剂量处理下 5 代试虫。将同一虫源以不用药剂处理为对照, 与处理试虫隔离同步饲养, 以期培养敏感品系。

5. 毒力测定方法 采用世界粮农组织 (FAO, 1979) 推荐的对小菜蛾抗药性标准测定方法, 即试虫为 2—3mg 体重的四龄幼虫, 用点滴法测定。以丙酮为溶剂, (杀虫双和杀螟丹先以少量蒸馏水溶解), 将药剂稀释成 5—6 个浓度系列, 每一浓度点滴测定 100 头幼虫, 用直径 6cm 的玻璃皿, 每皿放 10 头四龄幼虫, 先经 CO_2 轻度麻醉后, 在其胸部背面点滴 0.5 μl 的药液, 处理后的幼虫以甘兰叶饲养, 24 小时后检查结果。每次处理均设点滴丙酮为对照, 自然死亡率在 5% 以内为有效试验, 计算出校正死亡率。用 PC 1500 微机机率法求回归式及 LD_{50} 等数值。

(二) 抗性机制生化实验

1. 酯酶制备及电泳 取四龄幼虫(每头虫重 4—5mg) 50 头, 匀浆、离心 (5000rpm, 4°C , 20 分钟), 取上清液用 40% 蔗糖稀释一倍作为酶源使用。电泳系采用聚丙烯酰胺凝胶垂直平板电泳法(张龙翔等, 1981)。凝胶厚度 1mm, 分离胶浓度为 7%, 浓缩胶浓度为 2.5%, 加样 50 μl , 电泳在 0°C 冰箱中挂冰进行, 分离胶中先用 30mA 电泳 30 分钟, 然后升至 40mA 电泳 100 分钟。电泳后的凝胶板置于染色液中于 37°C 水浴染色, 冲洗后固定脱色。最后将电泳结果在岛津 CS-910 型双波长薄层扫描仪上扫描。

2. 酯酶制备及活性测定

(1) 羧酸酯酶 取 20 头四龄幼虫, 加 8ml 0.04mol/L pH7.0 的磷酸盐缓冲液, 在冰水浴中匀浆, 匀浆液于 4°C 离心 (5000 rpm) 15 分钟, 取上清液做为酶源。参照 Asperen (1962) 方法进行酶活力测定。

(2) 乙酰胆碱酯酶 (AChE) ①比色法: AChE 活力测定, 参照 Ellman (1961) 方法。②酸度计法: 参照 Whittaker (1984) 方法。取 100 头幼虫在冰浴中匀浆, 加 5ml 血清缓冲液, 测 pH_1 值和 pH_2 值。AChE 的计算方法为

$$\Delta\text{pH}/hr = \left(\frac{\text{pH}_1 - \text{pH}_2 - b}{\Delta t} \right) f$$

式中 b 为底物非酶水解常数; f 为酶活性随 pH 值的偏差。

(3) 增效剂试验 Pb (增效醚) 和 SV₁ (增效磷) 均以丙酮做溶剂配所需浓度, 做增

效实验时,先将一定浓度的增效剂丙酮溶液点滴 $0.5\mu\text{l}$ 于幼虫前胸背板,待溶液干后再进行杀虫剂的毒力测定。参照 Brindiey (1977) 的方法求增效比 (SR) 和增效差 (SD)。

结果与分析

(一) 抗药性选育结果

1. 抗杀虫双小菜蛾品系选育 选育前 (F_0 代)四龄幼虫的 LD_{50} 值为 $0.55\mu\text{g}/\text{头}$ 。开始选育用杀虫双处理的浓度为 1000ppm, 即每头四龄幼虫点滴的有效剂量为 $0.5\mu\text{g}$, 以后处理浓度逐步提高。如 F_{11} 代处理浓度 4000ppm; F_{16} 代 8000ppm; F_{21} 代 16000ppm; F_{26} 代 32000ppm; 到 F_{31} 代处理浓度已提高到 64000ppm, 每头四龄幼虫点滴的有效剂量为 $32\mu\text{g}$, 比最初选育剂量提高了 64 倍, 现已选育到 38 代, 处理浓度仍维持在 64000ppm 没有再提高。

2. 抗杀螟丹小菜蛾品系选育 选育前 (F_0 代)四龄幼虫的 LD_{50} 值为 $0.24\mu\text{g}/\text{头}$ 。第一次选育用杀螟丹处理的浓度为 500ppm, 即每头四龄幼虫点滴的有效剂量为 $0.25\mu\text{g}$, 以后处理浓度逐步提高。如 F_{11} 代浓度为 1000ppm; F_{16} 代 4000ppm; 到 F_{21} 代处理浓度已提高到 8000ppm, 每头四龄幼虫点滴的有效剂量为 $4\mu\text{g}$, 比最初选育剂量提高 16 倍。以后的处理浓度维持在 8000ppm 没有再提高, 现已选育到 36 代。

3. 小菜蛾敏感品系的培养 将以上供选育用的小菜蛾正常种群经 F_0 代测定后, 不接触任何药剂, 单独隔离与选育处理试虫同步饲养, 以期培养敏感品系。

以上品系每隔 5 代测定一次小菜蛾四龄幼虫对杀虫双和杀螟丹的 LD_{50} 值, 了解选育后抗性发展趋势, 结果见表 1、2、3、4 和图 1。

表 1 杀虫双对小菜蛾抗性选育结果

(1989.11—1991.9)

结果 选育代数	回归方程式 ($y = a + bx$)	LD_{50} (95% 置信限) ($\mu\text{g}/\text{头}$)	抗性增长倍数 (与 F_0 比)	相关系数 (r)
F_0	$y = 5.4234 + 1.6332x$	0.55(0.65—0.46)	1.00	0.9924
F_5	$y = 4.7253 + 1.7078x$	1.45(1.77—1.19)	2.63	0.9742
F_{10}	$y = 4.6172 + 1.2711x$	2.00(2.47—1.62)	3.63	0.9524
F_{15}	$y = 3.3314 + 1.7473x$	9.02(10.62—7.65)	16.40	0.9973
F_{20}	$y = 2.7869 + 1.8937x$	14.75(17.06—12.75)	26.82	0.9939
F_{25}	$y = 2.6381 + 1.9903x$	15.37(17.72—13.33)	27.94	0.9939
F_{30}	$y = 1.5900 + 2.3736x$	27.33(31.97—23.36)	19.64	0.9989
F_{35}	$y = 2.3370 + 1.6335x$	28.34(32.97—24.36)	51.53	0.9804

由表 1 和图 1 可见, 经过杀虫双选育 35 代的 RS 品系对杀虫双的敏感度 LD_{50} 值从 $0.55\mu\text{g}/\text{头}$ 下降到 $28.34\mu\text{g}/\text{头}$, 抗性上升 51.53 倍。从表 3 和图 1 看出敏感品系对杀虫双的敏感度没有降低, F_{36} 代的 LD_{50} 值为 $0.61\mu\text{g}/\text{头}$, 与 F_1 代比, 毒力指数仅增加 0.11。

表 2 和图 1 结果表明, 经杀螟丹选育 35 代的 RP 品系对杀螟丹的敏感度 LD_{50} 值从 $0.24\mu\text{g}/\text{头}$ 下降到 $6.21\mu\text{g}/\text{头}$, 抗性上升了 25.88 倍, 但比 RS 品系的抗性增长慢。表 4 和

表 2 杀螟丹对小菜蛾抗性选育结果

(1989.12—1991.10)

结果 选育代数	回归方程式 ($y = a + bx$)	LD ₅₀ (95% 置信限) ($\mu\text{g}/\text{头}$)	抗性增长倍数 (与 F ₀ 比)	相关系数 (r)
F ₀	$y = 6.1321 + 1.8269x$	0.24(0.33—0.22)	1.00	0.9698
F ₅	$y = 6.0232 + 1.8582x$	0.20(0.33—0.24)	1.17	0.9931
F ₁₀	$y = 5.5260 + 1.3613x$	0.52(0.61—0.45)	2.17	0.9887
F ₁₅	$y = 4.6275 + 1.8378x$	1.59(1.85—1.38)	6.63	0.9879
F ₂₀	$y = 3.2906 + 2.3288x$	5.44(6.18—4.79)	22.67	0.9864
F ₂₅	$y = 3.9098 + 1.4190x$	5.87(6.97—4.94)	24.46	0.9969
F ₃₀	$y = 3.5413 + 1.8792x$	5.97(6.97—5.12)	24.88	0.9821
F ₃₅	$y = 3.9014 + 1.3858x$	6.21(7.31—5.27)	25.88	0.9978

表 3 杀虫双对小菜蛾敏感品系的毒力测定

(1989.11—1991.9)

结果 代数	回归方程式 ($y = a + bx$)	LD ₅₀ (95% 置信限) ($\mu\text{g}/\text{头}$)	毒力指数 (与 F ₁ 代比)	相关系数 (r)
F ₁	$y = 5.4234 + 1.6332x$	0.55(0.65—0.46)	1.00	0.9924
F ₆	$y = 5.1482 + 1.5104x$	0.70(0.04—0.67)	1.44	0.9493
F ₁₁	$y = 5.1281 + 0.9146x$	0.72(1.08—0.48)	1.31	0.9723
F ₁₆	$y = 4.8396 + 1.5392x$	1.26(1.59—0.99)	2.29	0.9857
F ₂₁	$y = 4.7903 + 1.7893x$	1.30(1.54—1.11)	2.36	0.9945
F ₂₆	$y = 5.0645 + 1.6430x$	0.49(0.62—0.38)	0.89	0.9975
F ₃₁	$y = 5.3629 + 1.4858x$	0.57(0.68—0.47)	1.04	0.9811
F ₃₆	$y = 5.3257 + 1.5135x$	0.61(0.78—0.47)	1.11	0.9984

表 4 杀螟丹对小菜蛾敏感品系的毒力测定

(1989.12—1991.10)

结果 代数	回归方程式 ($y = a + bx$)	LD ₅₀ (95% 置信限) ($\mu\text{g}/\text{头}$)	毒力指数 (与 F ₁ 代比)	相关系数 (r)
F ₁	$y = 6.1321 + 1.8269x$	0.24(0.28—0.20)	1.00	0.9698
F ₆	$y = 6.1831 + 1.6691x$	0.20(0.23—0.16)	0.83	0.9969
F ₁₁	$y = 7.3578 + 2.6850x$	0.13(0.15—0.12)	0.54	0.9899
F ₁₆	$y = 6.0112 + 2.2340x$	0.31(0.36—0.27)	1.20	0.9874
F ₂₁	$y = 5.5999 + 1.4593x$	0.38(0.47—0.31)	1.58	0.9966
F ₂₆	$y = 5.6069 + 1.3057x$	0.34(0.46—0.25)	1.42	0.9547
F ₃₁	$y = 6.0339 + 1.4606x$	0.20(0.24—0.15)	0.83	0.9912
F ₃₆	$y = 6.7187 + 2.2199x$	0.17(0.20—0.13)	0.85	0.9828

图 1 敏感品系对杀螟丹的敏感度没有降低。

从表 1、2 和图 1 还可以明显看出,在药剂选育初期抗性发展极缓慢,从 F₁₆ 代以后抗性上升较快,用杀螟丹处理从 F₂₀ 代以后、杀虫双从 F₃₀ 代以后抗性增长缓慢趋于稳定状况,其抗药性的形成发展均呈 S 形,可认为已成抗性品系。

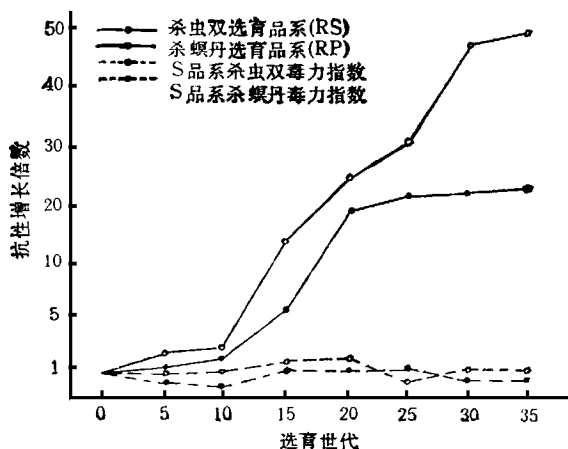


图1 杀虫双和杀螟丹汰选小菜蛾抗药性增长图(1989—1991年)

(二) 抗杀虫双(RS)和抗杀螟丹(RP)小菜蛾品系对杀虫剂的交互抗性

对RS和RP品系以 F_{30} 代以后的幼虫分别测定对杀虫双、杀螟丹、杀虫环、敌敌畏、马拉硫磷、杀螟松、溴氰菊酯、氯氰菊酯、氯菊酯、灭多威、久效威等杀虫剂的敏感度,结果见表5。

表5 抗杀虫双、抗杀螟丹小菜蛾品系对杀虫剂的交互抗性

(1991.6—9)

药 剂	品 系	敏感品系 LD_{50} ($\mu\text{g}/\text{头}$)	抗杀虫双品系		抗杀螟丹品系	
			LD_{50} ($\mu\text{g}/\text{头}$)	比 值 (R/S)	LD_{50} ($\mu\text{g}/\text{头}$)	比 值 (R/S)
杀虫双		0.5500	27.3300	49.69	14.9000	27.69
杀螟丹		0.2400	5.0000	20.83	5.9700	24.88
杀虫环		0.1300	2.1400	16.46	3.7100	28.54
敌敌畏		0.3100	0.1300	0.42	0.3400	1.10
马拉硫磷		0.1600	1.7900	11.19	1.0300	6.44
杀螟松		2.1100	2.2000	1.04	5.2200	2.47
溴氰菊酯		0.0828	0.0316	0.38	0.0654	0.79
氯氰菊酯		0.1320	0.1019	0.77	0.1386	1.00
氯菊酯		0.1437	0.0503	0.35	0.0360	0.25
灭多威		0.1018	0.0707	0.69	0.0977	0.96
久效威		1.0446	0.6356	0.61	0.9388	0.90

从表5可看出,用杀虫双和杀螟丹选育的两个小菜蛾抗性品系(RS)和(RP)(1)对沙蚕毒素杀虫剂之间有较高的交互抗性。(2)对有机磷杀虫剂敌敌畏、马拉硫磷和杀螟松RS品系的R/S值分别为0.42、11.19、1.04;RP品系的R/S值分别为1.10、0.44、2.47,表现不规律或有轻微交互抗性。(3)对菊酯类的溴氰菊酯、氯氰菊酯和氯菊酯,氨基甲酸酯类的灭多威、久效威的敏感度都有所上升,呈负交互抗性现象。这一结果将会有重要的实用意义,意味着小菜蛾对杀虫双类药剂产生高抗后可以用菊酯类或氨基甲酸酯类农药取代,或以二者交替使用而达到延缓抗性发展的目的。

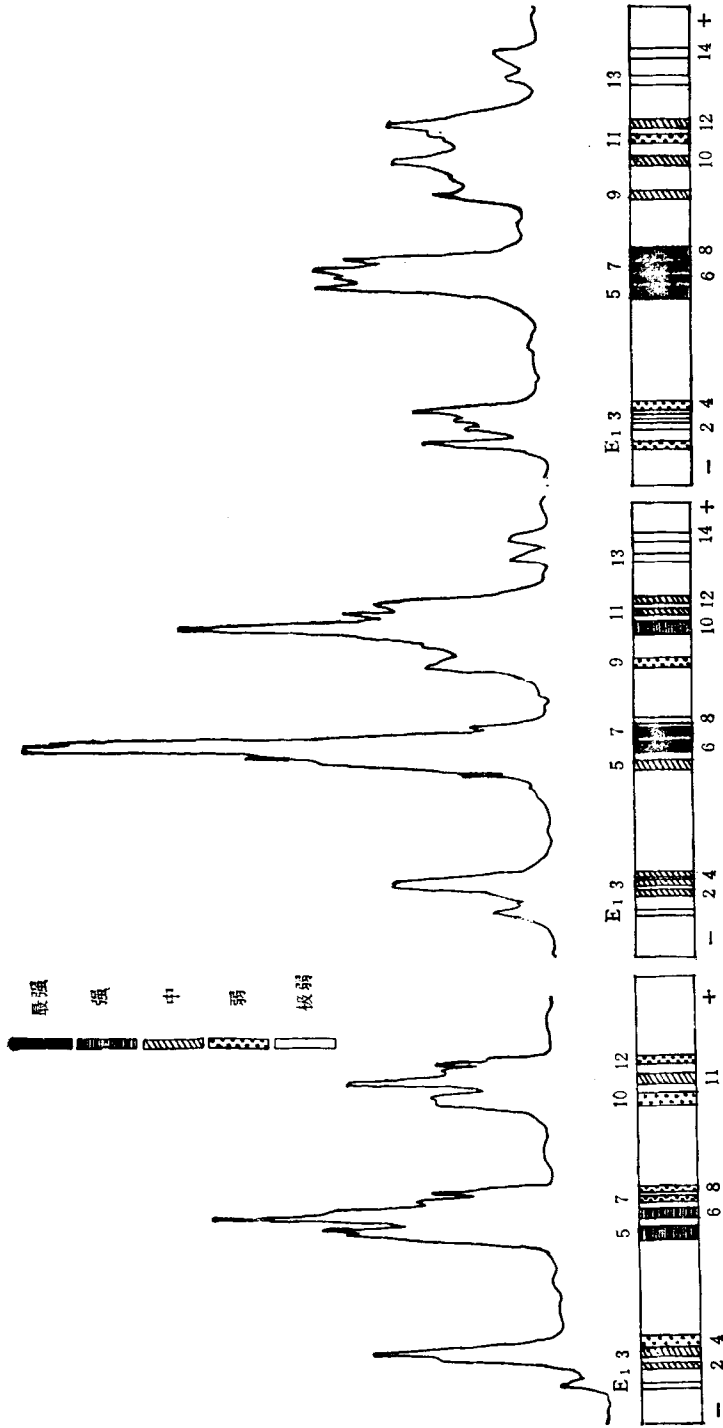


图2 小菜蛾敏感品系(S)的酯酶同工酶电泳模式酶谱和透射扫描曲线

图3 小菜蛾抗杀虫双品系(RS)F₁的酯酶同工酶电泳模式酶谱和透射扫描曲线

图4 小菜蛾抗杀螟丹品系(RP)F₁的酯酶同工酶电泳模式酶谱和透射扫描曲线

(三) 抗杀虫双 (RS) 和抗杀螟丹 (RP) 小菜蛾品系的抗性机制

1. 酯酶电泳结果 用聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE) 法对两个抗药性品系的酯酶同工酶的研究结果见图 2、3、4。

从图 3 RS 品系的扫描图谱中可见,非特异性酯酶同工酶 E_6 、 E_7 、 E_{10} 三个酶带的活性明显高于图 4S 品系。从图 3、图 4 还可以看出,RS 品系和 RP 品系均有 E_9 、 E_{13} 和 E_{14} 三个特异性酯酶带。因而认为小菜蛾对杀虫双和杀螟丹产生抗性与 E_9 、 E_{13} 、 E_{14} 三种特异性酯酶同工酶的形成有关。

2. 羧酸酯酶活性测定结果(表 6) 表 6 结果看出,RS 和 RP 两个抗性品系的小菜蛾以醋酸- α -萘酯为底物的羧酸酯酶活性与 S 品系比较有一定的提高,但不显著。羧酸酯酶是水解含有羧酸酯基化合物的酶类,但在杀虫双、杀螟丹的结构中均没有羧酸酯基、这说明羧酸酯酶在抗性形成中没有重要的作用。

表 6 三个小菜蛾品系羧酸酯酶活性及比值

小菜蛾品系	毫摩尔/头·小时	R/S	差异显著性*
抗杀虫双品系 (RS)	5.4035×10^{-3}	1.1237	无
抗杀螟丹品系 (RP)	5.0757×10^{-3}	1.0556	无
敏感品系 (S)	4.8085×10^{-3}	1.0000	

* 抗性品系与敏感种比较 $P = 0.05$

表 7 三个小菜蛾品系乙酰胆碱酯酶 (AchE) 活性及比值

小菜蛾品系	酸度计法活性比值			比色法活性及比值		
	$\Delta pH/100$ 头·小时	R/S	显著差异*	毫摩尔/头·30分钟	R/S	显著差异*
抗杀虫双品系 (RS)	0.34	0.29	*	1.8267×10^{-5}	0.40	*
抗杀螟丹品系 (RP)	0.54	0.46	*	2.5960×10^{-5}	0.57	*
敏感品系 (S)	1.18	1.00		4.5240×10^{-5}	1.00	

* 抗性品系与敏感品系比较 $P = 0.05$

3. 乙酰胆碱酯酶活性 从表 7 的结果可看出,用酸度法和比色法测定的结果均表明,RS 品系和 RP 品系与 S 品系比较,乙酰胆碱酯酶活性均明显降低,差异显著。但已知沙蚕毒素药剂,如杀螟丹是占领乙酰胆碱受体,是否可能使乙酰胆碱酯酶的活性不敏感,值得进一步研究。

4. 增效剂测定结果 将 Pb 和 SV_1 二种增效剂分别对虫体进行前处理后,再测定杀虫双和杀螟丹对 RS 品系和 RP 品系的增效作用,结果见表 8。从表 8 结果看出,Pb 100ppm、200ppm 和 500ppm 对 RS 品系的增效比 (SR 值)分别为 6.23、6.28 和 4.16;增效差 (SD 值)分别为 15.61、23.83 和 21.53,可见 Pb200ppm 的增效最显著。Pb200ppm 对 RP 品系的 SR 值为 4.85;SD 值为 4.93,增效显著。 SV_1 对 RS 品系和 RP 品系的增效均不显著。试验结果表明,Pb 具有抑制 RS 品系和 RP 品系体内多功能氧化酶 (MFO) 的氧化作用,增效作用显著,表明该两个品系的抗性主要是由于 MFO 的作用。

表 8 增效剂对两种抗性小菜蛾品系的增效作用

1991.8—10

小菜蛾品系	处 理	增效剂浓度 (ppm)	LD ₅₀ (μg/头)	增效倍数 SR*	增效差 SD**
抗杀虫双品系	杀虫双	—	28.34	—	—
抗杀虫双品系	Pb + 杀虫双	100	12.73	2.23	15.61
抗杀虫双品系	Pb + 杀虫双	200	4.51	6.28	23.83
抗杀虫双品系	Pb + 杀虫双	500	6.81	4.16	21.53
抗杀虫双品系	SV ₁ + 杀虫双	100	23.04	1.23	5.30
抗杀虫双品系	SV ₁ + 杀虫双	200	19.61	1.45	8.73
抗杀螟丹品系	杀螟丹	—	6.21	—	—
抗杀螟丹品系	Pb + 杀螟丹	200	1.28	4.85	4.93
抗杀螟丹品系	SV ₁ + 杀螟丹	200	4.46	1.39	1.75

$$* SR = \frac{\text{杀虫剂单独的 } LD_{50}}{\text{杀虫剂+增效剂的 } LD_{50}}$$

$$** SD = \text{杀虫剂单独的 } LD_{50} - \text{杀虫剂+增效剂的 } LD_{50}$$

讨 论

1. 经过35代药剂淘汰选育,杀虫双处理的小菜蛾种群,其四龄幼虫的 LD₅₀ 值由选育前的 0.55 微克/头提高到 28.34 微克/头,抗性增长 51.52 倍;杀螟丹处理, LD₅₀ 值由选育前的 0.24 微克/头提高到 6.21 微克/头,抗性增长 25.88 倍。其抗药性的形成发展为前期缓慢、中期快和后期又变慢的趋势,均呈标准的 S 形,尤其 RP 品系自 F₂₀ 代以后至 F₃₅ 代其抗性发展基本稳定,因此可以认为两个药剂处理的小菜蛾种群已形成抗性品系。

2. 对杀虫双选育和杀螟丹选育 F₃₀ 代以后抗性已基本稳定的小菜蛾四龄幼虫,分别用多种药剂测定其敏感度,以了解交互抗性情况,其结果可以明显看出:抗杀虫双品系和抗杀螟丹品系的小菜蛾对沙蚕毒素类杀虫剂如杀虫双、杀螟丹和杀虫环之间有较高的交互抗性;对有机磷类杀虫剂如敌敌畏、马拉硫磷和杀螟松等有轻微交互抗性;对菊酯类杀虫剂如溴氰菊酯、氯氰菊酯、氯菊酯等和对氨基甲酸酯类杀虫剂的灭多威、久效威等则呈负交互抗性。这一结果具有重要的实用意义,应深入研究可作为抗性治理的理论依据提供生产上应用。

3. 从对抗杀虫双品系和抗杀螟丹品系小菜蛾的抗性机制研究结果可知,害虫产生抗药性的生化机理是相当复杂的,本文在这项研究中仅是初步的探讨,但仍可以看出害虫抗药性的形成是多因子作用,如小菜蛾对杀虫双和杀螟丹产生抗药性与特异性酯酶同工酶的形成有一定关系;与羧酸酯酶基本无关。但值得商榷的是,本文(表 7)用酸度法和比色法测定的结果均表明,两个抗性品系与敏感品系比较,乙酰胆碱酯酶(AchE)活性均明显降低,且差异显著。据文献报道(王强,1984)现已明确沙蚕毒素(杀虫双、杀螟丹的有效代谢物)的作用部位是占领乙酰胆碱受体(AchR),主要是阻断胆碱能突触的传递,不对 AchE 产生抑制作用。研究结果同时表明,沙蚕毒素抑制 AchE 的作用很弱,一般在杀虫机制中不起作用。而我们测定的两个抗性品系 AchE 的活性降低,是否为抗沙蚕毒

毒品系由于 AchR 对沙蚕毒素不敏感而产生 AchE 活性降低? 值得进一步研究明确。

4. 增效剂试验结果表明, Pb 具有抑制两个抗性品系小菜蛾幼虫体内多功能氧化酶(MFO)的氧化作用, 增效作用显著, 表明 MFO 是导致小菜蛾对杀虫双和杀螟丹产生抗性的重要因素。由于害虫抗药性的产生具有多因子作用, 将会给抗性治理工作增加一定的难度, 若能搞清楚产生抗药性的机理, 就不难找到克服抗药性的方法。从生化机理角度看, 若能找出造成害虫产生抗药性的酶的高效抑制剂, 就有可能解决或压低害虫的抗药性。因此, 合理选用新药剂和使用增效剂是有希望的。

参 考 文 献

- 王强 1984 沙蚕毒素及巴丹类杀虫剂的毒杀机制。农药译丛 6(5): 40-6。
- 柯礼道、方菊莲 1981 应用发芽菜籽大量饲养小菜蛾。昆虫知识 18(5): 233。
- 张龙翔等 1981 生化实验方法和技术。第 94—111 页。人民教育出版社。
- Asperen, K. V. 1962 A study of housefly esterases by means of a sensitive colorimetric method. *J. Insect Physiol.* 8: 401—16.
- Brindley, W. A. 1977 Synergic differences as an alternate interpretation of carbaryl-piperonyl butoxide toxicity data. *Environ. Entomol.* 6: 885.
- Ellman, C. L. et al. 1961 A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* 7: 88.
- FAO 1979 Method for the diamond back-moth (*Plutella xylostella* L.) *FAO Plant Protec. Bull.* Vol. 27(2) No. 21: 44—46.
- Whittaker, M. 1984 *Methods of Enzymatic Analysis*, 3th edition p. 52—57, Verlag Chemie Press Weinheim.

DEVELOPMENT OF DIAMOND-BACK MOTH STRAINS RESISTANT TO DIMEHYPO AND CARTAP WITH REFERENCE TO THE MECHANISM OF RESISTANCE

CHEN ZHI-HAO LIU CHUAN-XIU LI FENG-LIANG HAN ZHAO-JIU

(*Institute of Plant Protection, Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Guiyang 550006*)

Diamond-back moth (*Plutella xylostella*) larvae in fourth instar were topically applied with dimehypo and cartap in successive generations in the laboratory to develop resistant strains of the moth. After 35 generations, the resistance of the moth to dimehypo and cartap increased by 51 and 25 folds, respectively. The time course of resistance development appeared to be in S shape.

The sensitivities of the dimehypo-resistant and cartap-resistant strains to 11 insecticides were tested. The results showed that the resistant strains had marked positive cross-resistance to dimehypo, cartap and thiocydam and slight positive cross-resistance to DDVP, malathion and fenitrothion, but showed negative cross-resistance to deltamethrin, cypermethrin, permethrin, methomyl and thiofonox. PAGE demonstrated that the resistance to insecticides was related to the activity of special types of esterase. Activities of CarE and AchE were measured by colorimetry and acidity analysis. The results indicated that in the resistant strains the AchE activity decreased, but the CarE showed no difference in activity. Topical application of the synergist Pb or Sv₁ to the fourth instar larvae would increase their sensitivity to the insecticides, the synergism in dimehypo-resistant strain was 6.28 times for Pb and 1.45 for Sv₁, and in the cartap-resistant strain 4.85 and 1.39 times, respectively. It seems that MFO is an important factor for the moth to resist dimehyp and cartap.

Key words *Plutella xylostella*—dimehypo—cartap—insecticide resistance