

· 研究简报 ·

苏云金杆菌对抗性及敏感小菜蛾的拒食活性

杨峰山^{1,2}, 张友军^{2*}, 张文吉¹, 吴青君², 徐宝云², 邱德文³

(1. 中国农业大学 理学院, 北京 100094; 2. 中国农业科学院 蔬菜花卉研究所, 北京 100081;

3. 中国农业科学院 生物防治研究所, 北京 100081)

摘要: 调查了苏云金杆菌对抗性和敏感小菜蛾的拒食活性。选择性和完全拒食试验表明, Bt 对抗性和敏感小菜蛾种群都有一定的拒食作用, 且拒食活性随 Bt 浓度的增加而显著增强。相对于抗性种群, 小菜蛾敏感种群对 Bt 杀虫剂表现了更强的拒食趋势, 其拒食中浓度 A_{FC50} (0.089 3 μg/mL) 显著低于抗性种群 (0.148 1 μg/mL)。试验结果表明, 抗性种群对有毒叶片的行为避害能力弱于敏感种群, 小菜蛾对 Bt 杀虫剂的抗性产生应与其行为机制无关。

关键词: 小菜蛾; 苏云金杆菌; 拒食活性

中图分类号: S482.39

文献标识码: A

文章编号: 1008-7303(2004)03-0077-04

Anti-feeding Activity of *Bacillus thuringiensis* Resistant and Susceptible Population of *Plutella xylostella* (L.)

YANG Feng-shan^{1,2}, ZHANG You-jun^{2*}, ZHANG Wen-ji¹,
WU Qing-jun², XU Bao-yun², QIU De-wen³

(1. College of Sciences, China Agricultural University, Beijing 100094, China;

2. Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Science, Beijing 100081, China;

3. Institute of Biological Control, Chinese Academy of Agricultural Science, Beijing 100081, China)

Abstract: Selective and complete anti-feeding bioassays were used to determine the anti-feeding activity of *Bacillus thuringiensis* (Bt) to resistant and susceptible population of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.). Bt showed some anti-feeding activity to the third instars larvae of both populations and its activity increased significantly with the increase of its concentration. The susceptible population was more susceptible to the effect of Bt than the resistant population. Its A_{FC50} is significant lower than that of resistant population. The resistant population had lower instinct to avoiding damage than susceptible population on treated leaves. The result implied that the resistance of diamondback moth to Bt did not relate with behavior resistance mechanism.

Key words: *Plutella xylostella*; *Bacillus thuringiensis*; anti-feeding activity

苏云金杆菌 (*Bacillus thuringiensis*, Bt) 是目前世界上用途最广、产量最大的微生物杀虫剂, 占微生物杀虫剂总量的 95% 以上, 在害虫防治中起着巨大的作用, 但目前 Bt 杀虫剂的使用正面临着致命的威

胁——害虫对 Bt 的抗药性。自从 1990 年 Tabashnik^[1]首次报道长期应用 Bt 的美国夏威夷田间小菜蛾对 Bt 产生了抗药性以来, 到目前为止, 已有多种昆虫在实验室条件下对 Bt 产生了抗性, 同时国内外

* 收稿日期: 2004-02-10; 修回日期: 2004-03-22

作者简介: 张友军 (1968-), 男, 湖南人, 博士, 研究员, 主要从事昆虫抗性机理研究

联系电话: 010-68919518; E-mail: zhangyj@mail.caas.net.cn

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30270900); “十五”国家科技攻关项目 (2003BA516A08), (2001BA509B06)。

众多学者也发现不同地区田间小菜蛾对Bt制剂产生了抗药性。有关害虫对Bt的抗性机理已成为当前国际研究的热点问题之一。Ferre^[2]认为昆虫对Bt的抗性机制并不是单一的,Heckel^[3]也分析了昆虫对Bt产生抗性的10种潜在机理,其中受体基因的突变导致受体蛋白与Bt毒素的结合位点、结合能力变化是目前比较认同的机理,但其对行为抗性影响方面的研究尚未见相关报道。作者就Bt对抗性及敏感小菜蛾的拒食活性方面进行了分析,了解其抗性及其敏感小菜蛾在行为取食方面的差异,以期从另一视野探讨小菜蛾对Bt的抗性机制。

1 材料与方法

1.1 供试药剂

Bt杀虫粉剂(湖北省农科院Bt研究开发中心提供),效价量16 000 IU/mg,属*B. thuringiensis subsp. kurstaki*(Bt K)。供试甘蓝:品种为京丰一号(中国农业科学院蔬菜花卉研究所提供),在苗期取叶片进行试验。

1.2 供试昆虫

供试小菜蛾*P. lutella xylostella* L. 敏感种群(武汉市蔬菜所惠赠)已于实验室内用甘蓝苗连续饲养

13年,180多代,期间未接触任何杀虫剂。抗性小菜蛾种群采自深圳供港菜区,并在本实验室用Bt粉剂连续汰选15代,较敏感种群抗性达10~12倍。

1.3 试验方法

1.3.1 叶片处理方法 取新鲜甘蓝苗嫩叶片,用打孔器打下直径3 cm的叶碟。取Bt粉剂分别稀释为0.062 5、0.125、0.25、0.5、1 μg/mL的系列浓度梯度,药液中加入0.2 mg/g的Triton X-100。将叶碟放入相应处理药液中浸渍10 s,取出晾干。

1.3.2 选择性拒食作用测定

拒食效果测定:取经系列梯度药液处理的甘蓝叶碟,放在每个底部垫有湿滤纸片的直径12 cm的培养皿中,处理和对照叶碟各2片,对角4点相间排列,各处理叶碟间距2 cm。每处理在培养皿中央接10头3龄幼虫,4次重复。分别于处理后4 h和24 h统计处理叶碟和对照叶碟取食虫数,按公式(1)计算拒食效果^[4]。

拒食率测定^[5,6]:重复以上拒食效果测定试验,处理后24 h用方格坐标纸统计被取食的叶碟面积,按公式(2)计算拒食率。

1.3.3 完全拒食作用测定 也采用叶碟法,其叶碟规格、处理药液浓度和处理方法均与1.3.2中的相

$$\text{拒食效果}(\%) = \frac{\text{对照叶面取食虫数} - \text{处理叶面取食虫数}}{\text{对照叶面取食虫数}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{拒食率}(\%) = \frac{\text{对照组取食面积} - \text{处理组取食面积}}{\text{对照组取食面积}} \times 100 \quad (2)$$

同,所不同的是,完全拒食作用是将处理叶碟和对照叶碟各4片分别均等地置于不同的培养皿内,每个培养皿中放入10头饥饿的小菜蛾3龄幼虫,任其取食。处理或对照叶碟被取食完后,及时补充。于处理后24 h统计被取食叶碟的面积,与对照比较,按公式(2)计算各处理的拒食率,用回归解析法计算拒食中浓度。

利用SA S软件对以上调查数据进行统计分析,差异显著性分析采用Duncan新复极差法。

2 结果与分析

2.1 Bt对抗性和敏感小菜蛾的选择性拒食结果

由选择性拒食作用的测定结果(见图1、2)可知,Bt不同浓度梯度的药液对抗性和敏感种群小菜蛾均具有一定的拒食作用,随着浓度的增加,拒食作用呈上升趋势。而且Bt各处理对敏感种群的拒食效

果在同一浓度和时间下高于相应的抗性种群。就不同时间而言,低浓度时对抗性种群的拒食效果随时间增加而增强;而高浓度处理时,则表现出拒食效果随时间增加而减弱的趋势。这与敏感种群的结果不一致。试验表明,在低浓度时,抗性种群中相对敏感个体在选择性取食习性方面较敏感,会较早地选择无毒叶片,而抗性个体在较长时间后才会有不适反应而趋于选择无毒叶片;在高浓度处理时,抗性种群由于有一定的耐药性,会有个体在处理药叶滞留取食,而敏感种群则会更多地选择无毒叶片。

由表1中数据看出,当Bt药液浓度为0.062 5~0.5 μg/mL时,敏感小菜蛾的拒食率明显高于抗性种群的,而在高浓度(1 μg/mL)时,并没有显著差异。经回归计算得知:敏感种群拒食中浓度 AF_{50} =

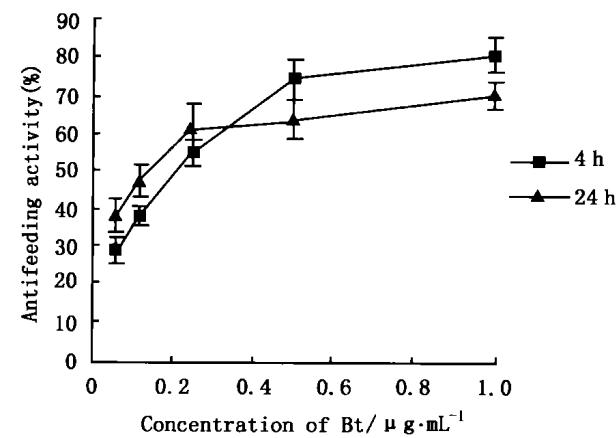


Fig 1 The antifeeding activity of Bt to resistant population

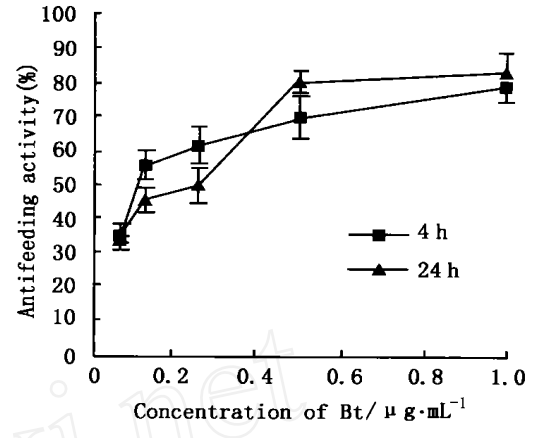


Fig 2 The antifeeding activity of Bt to susceptible population

Table 1 The select anti-feeding action of Bt to resistant and susceptible population of *P. xylostella*

Concentration of Bt/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	Leafarea consumed/ mm^2		Antifeedancy (%)	
	Susceptible	Resistant	Susceptible	Resistant
0.0625	131.7	83.3	39.4 c	29.4 d
CK	215.7	120.3		
0.125	97.2	94.1	54.0 b	45.1 cd
CK	210.3	156.7		
0.25	44.7	60.3	83.0 a	59.7 bc
CK	283.2	155.3		
0.5	25.7	25.5	89.3 a	80.6 ab
CK	285.7	183.7		
1.0	22.7	16.3	1.4 a	93.7 a
CK	274.3	259.7		

Note: The leafarea consumed and antifeedancy are average of four repeats at 24 h. Different case letter in same list was significant difference, $P=0.05$ (Duncan's test). The same as in the following table

0.0893 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 抗性种群 $A_{FC50}=0.1481 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。

2.2 Bt 对抗性和敏感小菜蛾的完全拒食率

完全拒食作用的生物测定结果显示,Bt 对敏感种群的拒食活性也要高于抗性种群(见表 2)。回归

计算得知Bt对敏感种群的 $A_{FC50}=0.0819 \mu\text{g}/\text{mL}$, 抗性种群的 $A_{FC50}=0.1475 \mu\text{g}/\text{mL}$, 与以上选择性拒食试验结果基本一致。

Table 2 The complete antifeeding action of Bt to resistant and susceptible population of *P. xylostella*

Concentration of Bt/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	Leafarea consumed/ mm^2		Antifeedancy (%)	
	Susceptible	Resistant	Susceptible	Resistant
0.0625	213.2	243.2	44.0 c	29.9 d
0.125	123.5	198.3	69.8 b	42.8 c
0.25	65.3	126.2	86.6 ab	63.6 bc
0.5	32.4	69.3	96.1 a	80.0 ab
1.0	23.5	35.2	98.7 a	89.8 a
CK	365.4	346.7	—	—

3 小结与讨论

许多昆虫在取食毒素后几乎都有一个快速的停食反应,害虫在行为上对Bt毒素的逃避行为将减少毒素的摄入量,这也是抗性表现的一种方式,如实夜蛾属 *Heliothis* 昆虫的幼虫能区分出含有毒素的饲料^[7]。行为的变化可能会使昆虫躲开最高的Bt剂量,并减少有效的剂量接触,但行为改变与抗性产生的具体关系并未得到具体证实。

本试验结果表明,Bt对抗性和敏感种群小菜蛾都具有一定的拒食作用,而且随着Bt处理浓度的增加,拒食活性随之增高。从表1、2的结果看,高浓度处理时,抗性种群和敏感种群对Bt的拒食率差异不明显,但在低浓度处理时,拒食率的差异很明显。而且各处理对敏感种群拒食活性均高于抗性种群。拒食活性大小通常是用 AF_{50} 值来表示,该值越小,说明拒食活性越高。由选择性拒食和完全拒食试验数据计算抗性种群和敏感种群的 AF_{50} 结果可知,Bt对抗性种群的 AF_{50} 显著高于敏感种群,表明抗性种群对有毒叶片的行为避害能力弱于敏感种群。

害虫一般在取食Bt 48 h后达到死亡高峰,而本试验是在较低的处理浓度条件下,在24 h内完成数据的调查,试验结果可以反映出小菜蛾在取食Bt制剂后取食行为的变化。虽然Bt对小菜蛾具有拒食作用,而且抗性种群与敏感种群有差异,但抗性种群行为避害能力却弱于敏感种群。因此,行为避害应与

小菜蛾对Bt抗性的产生无关。

参考文献:

- [1] Tabashnik B H, Cushing N L, Finson N, *et al*. Field development of resistance to *Bacillus thuringiensis* in diamondbackmoth (Lepidoptera: Plutellidae) [J]. *J Econ Entomol*, 1990, 83: 1671-1676
- [2] Ferre J, Van Rie J. Biochemistry and genetics of insect resistance to *Bacillus thuringiensis* [J]. *Annu Rev Entomol*, 2002, 47: 501-533
- [3] Heckel D G. The complex genetic basis of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins in insects [J]. *Biocontrol Science and Technology*, 1994, 4: 405-417
- [4] CHU Shin-Foon (赵善欢). Chemistry of Plant Protection: Secondly Edition (植物化学保护: 第二版) [M]. Beijing (北京): Agriculture Press (农业出版社), 1992: 498
- [5] ZHANG Ye-guang (张业光). 紫背金盘提取物对四种鳞翅目害虫作用活性的初步研究 [J]. *J South China Agric Univ* (华南农业大学学报), 1992, 13(4): 63-68
- [6] WU Wen-jun (吴文君). 昆虫拒食剂的生物测定方法 [J]. *Entomological Knowledge* (昆虫知识), 1988, 25(6): 365-367
- [7] Gould F, Anderson A. Effects of *Bacillus thuringiensis* and HD-73 delta-endotoxin on growth, behavior and fitness of susceptible and toxin-adapted strains of *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. *Environ Entomol*, 1991, 20: 30-38

(责任编辑: 金淑惠)