

四種殺蟲劑及其混合劑選汰後褐飛蝨之抗藥性型態

王順成 古德業 朱耀沂

臺灣省農業藥物毒物試驗所，臺中縣，霧峰鄉；農業委員會糧農處；
國立臺臺大學植物病蟲害系，臺北市。第一作者提供抽印本。

(接受日期：民國76年10月14日)

摘 要

王順成、古德業、朱耀沂 1988 四種殺蟲劑及其混合劑選汰後褐飛蝨之抗藥性型態
植保會刊 30 : 59—67.

以馬拉松選汰抗馬拉松之褐飛蝨品系，其後代之抗藥性倍數有增強之現象，其趨勢與該世代之水解酵素 (alioesterase) 活性之增強成正比。以好年冬連續選汰之抗好年冬品系，其後代之抗性增強，則與膽鹼酯酶 (acetylcholinesterase) 敏感度之降低成正比，而與水解酵素 (alioesterase) 活性之增強稍呈正相關之關係，以好年冬+馬拉松，賽文+亞素靈之混合劑連續選汰褐飛蝨 8 個世代時，其抗藥性並不增加。

關鍵字：選汰，抗藥性倍數，膽鹼酯酶，水解酵素。

緒 言

在室內以殺蟲劑為選汰壓以培育具抗藥性的害蟲品系，是抗藥性研究基礎工作之一，此項工作所獲資料除作田間害蟲抗藥性調查比較基礎資料外，並可作為害蟲抗藥性機制研究材料，Brown 認為昆蟲對殺蟲劑抗藥性產生的速率及幅度，受到殺蟲劑選汰壓力，殺蟲劑種類，使用量及昆蟲種類影響最大⁽¹⁾，因此在室內培育昆蟲抗藥性品系，必需兼顧這些條件，才可對其抗藥性產生程序做比較合理之分析。

有關以殺蟲劑選汰褐飛蝨之抗藥性品系，研究尚少，Lin等⁽²⁾於本省以 MIPC 及 MTMC 選汰褐飛蝨，6 代之後對 MIPC 產生 6 倍抗藥性，7 代之後對 MTMC 產生 8 倍之抗藥性。Kassai 等⁽³⁾於日本 Kagawa 地區以 carbaryl 及 propoxur 連續篩選 1979 年由 kagawa 田間採集之 T 族群褐飛蝨，經 12 子代後，褐飛

蝨對 carbaryl 及 propoxur 分別產生 4 及 5 倍之抗藥性，此為褐飛蝨以殺蟲劑進行室內藥劑篩選之開端，Miyata 等⁽⁴⁾以 malathion 及 fenitrothion 等藥劑，連續篩選褐飛蝨經 20 世代後，分別產生 359 倍及 45.7 倍之抗藥性，此為以有機磷殺蟲劑選汰褐飛蝨抗藥性另一典型。

由於本省與日本地理環境不同，用藥種類及使用量亦各有異，因此褐飛蝨抗藥性之獲得，可能亦有很大差異，本文擬就本實驗室自 1975 年由田間抗藥性調查中，褐飛蝨較易產生抗藥性之四種藥劑 malathion、monocrotophos、carbaryl、carbofuran 及其藥劑間混合之 carbaryl + malathion、carbaryl + monocrotophos、carbofuran + malathion、carbofuran + monocrotophos 進行篩選，以培育其抗藥性品系，並就所培育之抗藥性品系，分析其抗藥性機制。

材料與方法

褐飛蠊抗藥性品系之建立

利用四種殺蟲劑 carbaryl、carbofuran、monocrotophos、malathion 及四種混合劑 carbaryl + malathion、carbaryl + monocrotophos、carbofuran + malathion 和 carbofuran + monocrotophos (混合之比例為1:1) 作為選汰藥劑，並以敏感品系褐飛蠊為選汰蟲源，敏感品系褐飛蠊為1975年由嘉義農試所鄭清煥先生處提供，篩選時以500—1000隻四齡羽化五日褐飛蠊若蟲，放置於內含新鮮水稻秧苗之燒杯中，以手握型噴霧器噴灑之，噴藥量為5 ml。每個世代測試可引起褐飛蠊70%死亡率之濃度，處理後置於不含殺蟲劑新鮮水稻之養蟲箱內，如此連續循環選汰8個世代。其抗藥性每世代均加以測定之。

褐飛蠊經殺蟲劑選汰壓力子代之水解酵素 (aliesterase) 活性及膽鹼酯酶 (acetylcholinesterase) 敏感度分布頻率測定

以 carbaryl、carbofuran、monocrotophos、malathion、carbaryl + malathion、carbaryl + monocrotophos、carbofuran + malathion 及 carbofuran + monocrotophos 等為選汰殺蟲劑，利用經過選汰之第2、4、8子代各60隻，分別以單隻測定對 aliesterase 之活性及膽鹼酯酶對 carbofuran 及 malaxan 之敏感度，aliesterase 活性測定法採用 Gomori⁽¹²⁾ 方法為主，試驗時取一雌成蟲，以濃度 0.067 M，PH 7.2 之磷酸緩衝液 0.5 ml，加以研磨，再放入 700 × g 的離心機中離心 5 分鐘，再加入 3.95 ml 之磷酸緩衝液，並置於 30°C 下，預先加溫，讓酵素活化，然後加入 0.05 ml 之 0.03 M naphthyl acetate，使它反應十分鐘後再加 1 ml 之 0.3% diazoblue-sodium lauryl sulphate 顏色指示劑，然後以 Jasco 光譜儀在 600 nm 及 550 nm 之波長各測定 α -naphthyl acetate 及 β -naphthyl acetate 之光譜吸收度。

單隻褐飛蠊之膽鹼酯酶活性測定，則按 Hama 等⁽⁵⁾ 方法略加改變，首先以 0.22 ml 蒸餾水加入 PH 7.4 之 0.1 M 磷酸緩衝液 1.24 ml

，加以研磨後，加入 0.5 ml 之 0.11 M 5.5-dithiobis (2-nitrobenzoic acid) 呈色劑，並置於偵測管中，另以盛蒸餾水之偵測管為對照組，5 分鐘後加入 0.05 ml 之 0.015 M acetylcholinesterase iodine 受質於上二管中，並以 Jasco 之光譜儀在 412 nm 之波長，記錄其吸光度其值為 V_0 ，最後再加入供試農藥於丙酮中，並記錄 3 分鐘後之吸光度其值為 V_i ，而比較 V_i 與 V_0 之比值。

結 果

褐飛蠊抗藥性品系之建立

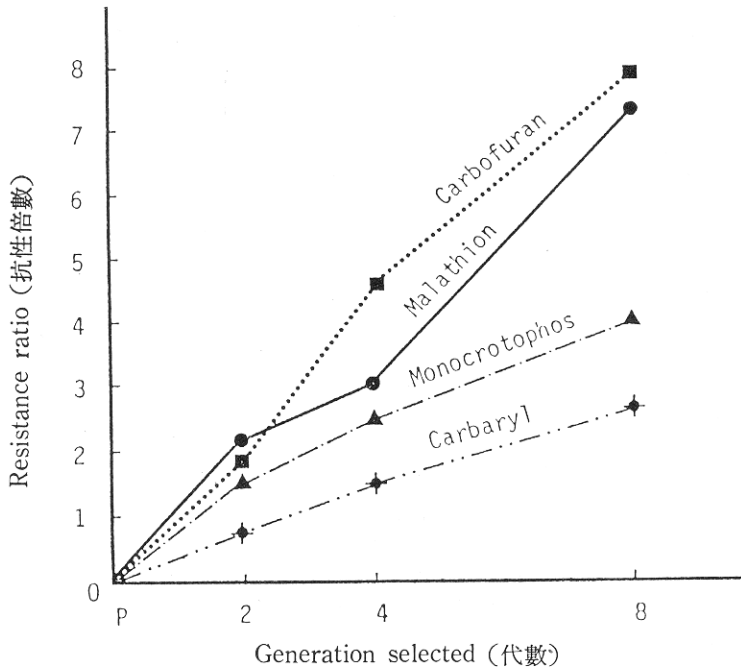
以 carbaryl 連續選汰敏感性品系之褐飛蠊時，在前 3 個世代內其抗藥性幾無變化，然至第 4 世代才略微增加至 1.5 倍，以後一直維持不變，但至第 7、8 世代時，抗藥性遽升至 2.6 倍 (圖一)。

以 carbofuran 做相同篩選時，在兩個世代內，其抗藥性增加至 2 倍，至第 4 世代增至 4.6 倍，其後從第 5 世代至第 8 世代，其抗藥性均呈上升現象至 8 倍左右 (圖一)。

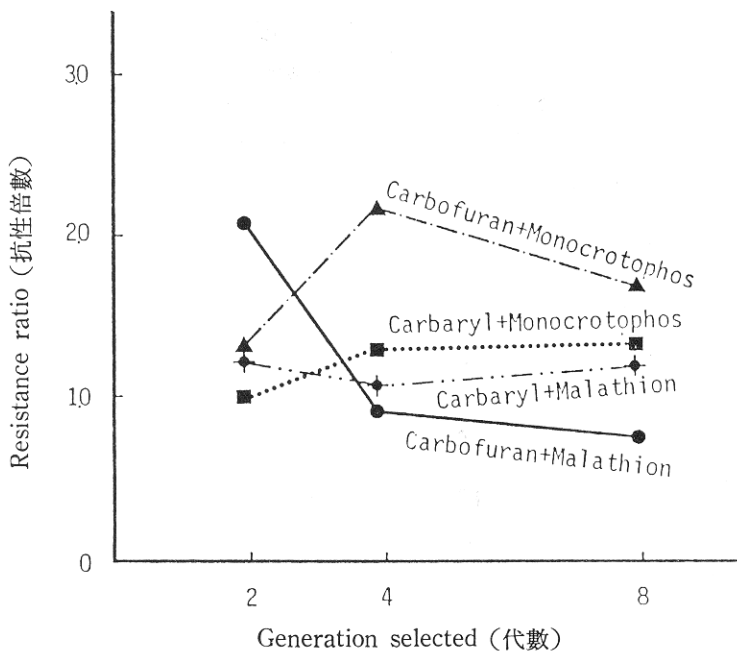
而以有機磷之 malathion 篩選抗藥性品系時，除第 2 世代略呈上升外，第 3 至第 6 世代間變化小，然第 7、第 8 兩世代其抗藥性倍數亦呈大幅之上升至 7.2 倍 (圖一)。

以 monocrotophos 選汰結果，前 4 個世代之抗藥性增加 2.5 倍，而第 8 世代時增加至 4.0 倍 (圖一)。

圖二為有機磷與胺基甲酸鹽類之四種不同殺蟲劑之混合劑，篩選 8 個世代褐飛蠊之抗藥性品系時，其抗藥性發展趨勢。以 carbaryl + monocrotophos，carbaryl + malathion 篩選褐飛蠊 8 個世代時，其 LC_{50} 值與敏感性品系親代幾乎相近，顯然在 8 世代之選汰中，其抗藥性並無顯著增加，至於以 carbofuran + malathion 為選汰藥劑時，褐飛蠊在前 2、3 世代之抗藥性略為上升，為親代之 2 倍左右，往後連續選汰數代，其 LC_{50} 值直線下降，而與敏感性品系親代十分相接近，甚至較親代之值略低。相同以 carbofuran + monocrotophos 之混合劑處理之結果，於 4 個世代內 LC_{50} 值增至 2 倍左右，往後則亦直線下降至 1.6 倍左



圖一、Carbaryl、carbofuran、malathion 和 monocrotophos 選汰後褐飛蟲各世代 LC_{50} 之比值。
 Fig. 1. Changes in resistance ratio (LC_{50} of resistant individuals compared with LC_{50} of susceptible parent) by selection with carbaryl, carbofuran, malathion and monocrotophos.



圖二、Carbaryl + monocrotophos, carbofuran + monocrotophos carbaryl + malathion 和 carbofuran + malathion 選汰後褐飛蟲各世代 LC_{50} 之比值。
 Fig. 2. Changes in resistance ratio (LC_{50} of resistant individuals compared with LC_{50} of susceptible parent) by selection with carbaryl+monocrotophos, carbofuran+monocrotophos, carbaryl+malathion and carbofuran+malathion.

右。

殺蟲劑選汰後褐飛虱後代族群之 *alioesterase* 活性與膽鹼酯酶之敏感度分布頻率

以 malathion 連續選汰褐飛虱 8 個世代時，各世代間之 *alioesterase* 活性分布頻率情形如圖三(A)所示。於未經選汰之親代雌蟲，以 α -naphthyl acetate 為受質，在 10 分鐘內可分解此受質之 *alioesterase* 活性以 μ mole 表示，其活性在 0.5μ mole 以下之個體佔 90%，隨 malathion 選汰壓力之增加，其後代之 *alioesterase* 活性隨之增加。如經 malathion 選汰 4 個世代之褐飛虱 (Ma 4)，*alioesterase* 活性在 0.5μ mole 與 2.0μ mole 之間之個體佔了 80%，但 Ma 8 世代其活性在 2.0μ mole 以上之個體佔 100%。

以 carbofuran 篩選之抗藥性品系其後代間之 *alioesterase* 活性分布頻率，如圖三(B)，其第 2 世代 (Cf 2) 與親代之 *alioesterase* 活性幾乎相似。至第 8 世代 (Cf 8) 其 *alioesterase* 活性略為增加，大多數個體之活性介於 1.0 與 3.0μ mole 之間。

利用上述褐飛虱之後代，測定膽鹼酯酶被抑制之頻率分布，以 malathion 選汰後之第 2 世代至第 8 世代之褐飛虱，其膽鹼酯酶被 malaoxon 抑制之敏感性並無顯著之變化 (圖三(C))。親代及第 2、4、8 各世代 Vi/Vo 值在 0.1 以下者分別佔 90%、95%、95% 及 95%。但 carbofuran 選汰後第 2、4、8 世代的膽鹼酯酶被抑制情形與有機磷不同 (圖三(D))，第 2 世代之 Vi/Vo 值在 0.35 以下者佔 90%。在第 4 代 Vi/Vo 值在 0.35 以下之間者佔 40%，第 8 世代 Vi/Vo 值在 0.35 以下間者佔 45%，2.0 以上者佔 25%，顯示隨 carbofuran 選汰代數之增加，其膽鹼酯酶被抑制率亦隨之增加，即敏感度隨選汰世代而降低。

討 論

本試驗經以有機磷之 malathion 及胺基甲酸鹽之 carbofuran 連續篩選褐飛虱敏感品系，8 個世代後褐飛虱可產生為親代 7.2 倍及 8 倍之抗藥性，carbofuran 結果與 Heinrich

等⁽⁶⁾菲律賓田間試驗 carbofuran 之結果相吻合，菲律賓之田間使用 carbofuran 三年後，褐飛虱對 carbofuran 之抗藥性幾乎增加 7 倍。本試驗之 malathion 結果則與日本 Miyata 等⁽¹⁰⁾之結果有出入，Miyata 等⁽¹⁰⁾室內以 malathion 篩選田間褐飛虱品系 8 個世代其抗藥性已達 20 倍左右，造成此種差異的原因，推測可能與使用篩選之親代褐飛虱品系不同所致，而本試驗以 carbaryl 及 monocrotophos 篩選褐飛虱經 8 個世代後，所產生抗藥性倍數僅 3—4 倍之間，此與 Kassai⁽⁸⁾之篩選結果相似。至於同翅目之其他重要水稻害蟲如斑飛虱之篩選結果，Ozaki 等⁽¹³⁾曾以 carbaryl 篩選此蟲 25 代，MTMC 12 代，methomyl 20 代，但斑飛虱對這些藥劑產生抗藥性幅度均很小，但對以 malathion 及 fenitrothion 分別篩選斑飛虱 24 代，則產生 250 倍及 60 倍之抗藥性，這種對有機磷易產生抗藥性之趨勢與褐飛虱十分相近。

經各種殺蟲劑選汰後褐飛虱，分析其後代所產生抗藥性機制，其中對 monocrotophos 及 malathion 抗藥性之產生原因似與 *alioesterase* 活性升高有密切之關係，即對 malathion 及 monocrotophos 具抗藥性之褐飛虱品系，其中 *alioesterase* 活性高之個體亦較多，進一步分析 malathion 及 monocrotophos 具抗藥性褐飛虱品系，具對膽鹼酯酶敏感度低的個體並不隨抗藥性之增高而增加，顯然褐飛虱對有機磷抗藥性與 *alioesterase* 活性較為密切，而與膽鹼酯酶敏感度之降低因素較少。另以胺基甲酸鹽之 carbofuran 選汰抗藥性之褐飛虱後代其 *alioesterase* 活性略有上升，但此時隨著抗胺基甲酸鹽抗藥性倍數之增加，明顯的其對膽鹼酯酶低敏感度的個體數亦大幅增加，因此推測褐飛虱對胺基甲酸鹽抗藥性之產生，以 *alioesterase* 活性關係較少而與膽鹼酯酶敏感度之降低關係較大，此與 Hama 及 Hosoda 研究黑尾葉蟬對有機磷及胺基甲酸鹽之抗藥性機制頗相類似，祇是褐飛虱抗藥性之強度並不如黑尾葉蟬，却與 Okuma、Ozaki 等研究斑飛虱時之抗藥性強度及機制相接近^(11,12,13)。

本試驗另以 malathion + carbaryl, mala-

thion + carbofuran 等混合劑篩選褐飛蝨 8 個世代後，結果並不誘發褐飛蝨產生抗藥性，有關同翅類昆蟲對混合藥劑不易誘發抗藥性的原因，經 Ozaki 等⁽¹³⁾以 malathion 與 carbaryl 及 malathion 與 MTMC 之二種混合劑選汰斑飛蝨 23 個世代加以探討，發現在起初之 8 個世代內其 LD₅₀ 值稍有增加之趨勢，然其後之 15 代間，其 LD₅₀ 值降低與敏感品系相接近，其

試驗經 1973 Ozaki 等⁽¹³⁾以生化分析後知，經選汰後斑飛蝨 8 個世代含有高活性 aliesterase 之個體並不增加，而此後代之膽鹼酯酶敏感度亦不降低，顯然斑飛蝨有交互抑制此二種酵素活性之功能，本文曾以試驗來證實褐飛蝨對於上述混合劑反應機制亦發現有類似之情形（表一、表二），就壓制害蟲抗藥性產生觀點而論，混合劑之使用仍有其應用的價值。

表一、四種混合殺蟲劑選汰褐飛蝨八個世代後其 aliesterase 之活性值

Table 1. Aliesterase activity in whole body extracts of brown planthoppers selected by mixed insecticides through 8 generation toward α - and β -naphthyl acetate¹⁾

Strain	α -naphthyl acetate (μ mole/10 min/female)	β -naphthyl acetate (μ mole/10 min/female)
Susceptible	0.29 \pm 0.02	0.18 \pm 0.02
CaMa	0.31 \pm 0.03	0.15 \pm 0.03
CabMa	0.26 \pm 0.01	0.17 \pm 0.02
CaMo	0.28 \pm 0.06	0.19 \pm 0.03
CabMo	0.32 \pm 0.04	0.24 \pm 0.01

1) Each test was done with extracts of 15 adults. Values are means of 8 replications \pm S.D.

CaMa = carbaryl + malathion

CaMo = carbaryl + monocrotophos

CabMa = carbofuran + malathion

CabMo = carbofuran + monocrotophos

表二、四種混合殺蟲劑選汰褐飛蝨 8 個世代後其膽鹼酯酶對 malaoxon 及 carbofuran 之敏感度

Table 2. Sensitivity of AChE in whole extracts of brown planthoppers selected by mixed insecticides through 8 generation to malaoxon and carbofuran¹⁾

Strain	malaoxon I ₅₀ (M)	carbofuran I ₅₀ (M)
Susceptible	1.28 \times 10 ⁻⁷	2.28 \times 10 ⁻⁸
CaMa	1.42 \times 10 ⁻⁷	2.61 \times 10 ⁻⁸
CabMa	1.51 \times 10 ⁻⁷	2.53 \times 10 ⁻⁸
CaMo	1.33 \times 10 ⁻⁷	2.45 \times 10 ⁻⁸
CabMo	1.25 \times 10 ⁻⁷	2.33 \times 10 ⁻⁸

1) Each test was done with extracts of 30 adults. Values are means of 4 replications \pm S.D.

CaMa = carbaryl + malathion

CaMo = carbaryl + monocrotophos

CabMa = carbofuran + malathion

CabMo = carbofuran + monocrotophos

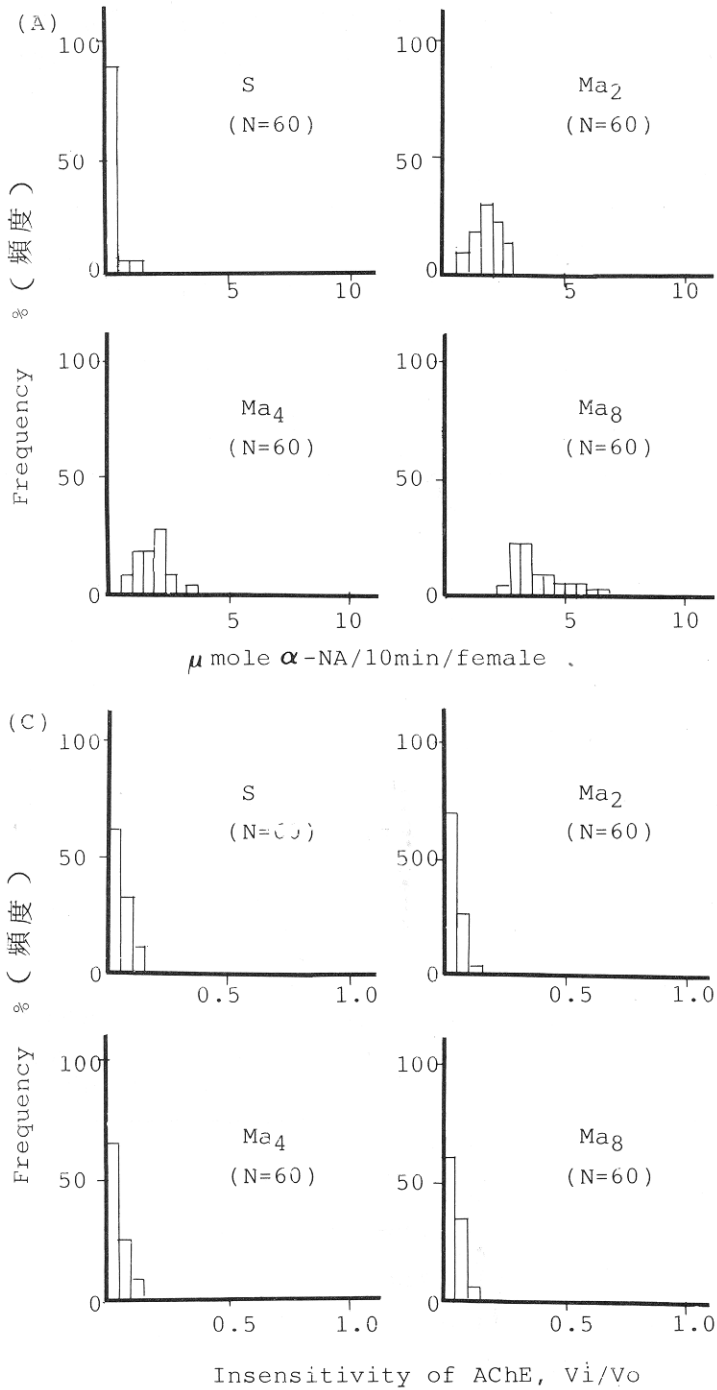
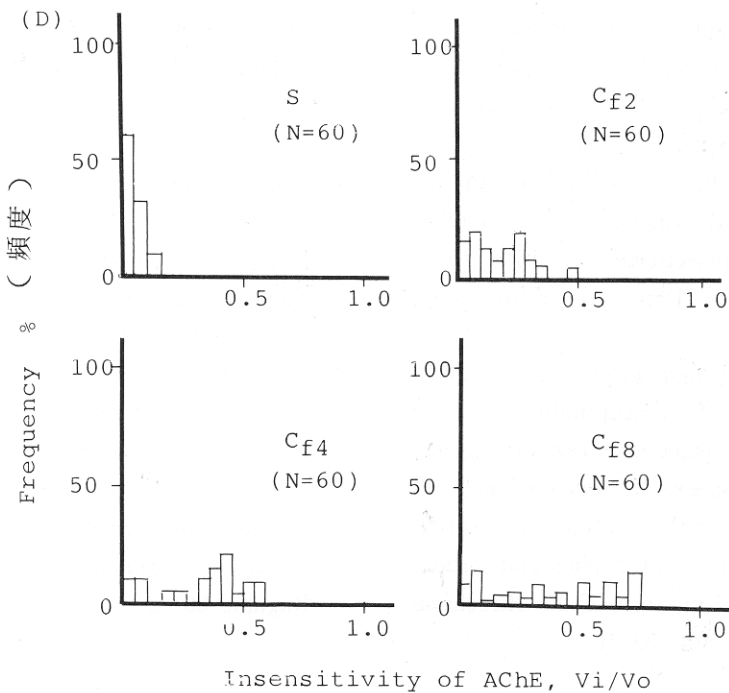
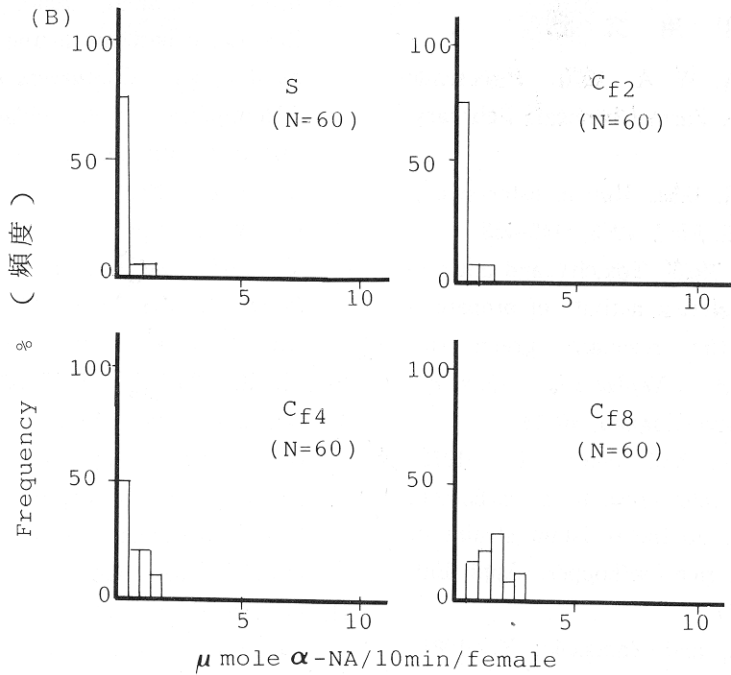


Fig. 3. (A) and (B) frequency distribution of aliesterase activity toward-naphthyl acetate of different generation of 2nd, 4th and 8th in female adults of brown planthoppers selected by malathion and carbofuran, respectively, (C) and (D) are frequency distribution of AChE sensitivity to malathion and carbofuran respectively, of different generation of 2nd, 4th and 8th in female adults of brown planthoppers selected by malathion and carbofuran, respectively.



引用文獻

1. Brown, A. W. A. 1970. Insecticide resistance. Farm Chemicals February, 54-63pp.
2. Gomori, G. 1953. Human esterases. J. Lab & Cli. Med. 42(3):445-453.
3. Hama, H. 1975. Toxicity and antiacetylcholinesterase activity of propaphos against the resistant green rice leafhopper, *Nephotettix cincticeps* Uhler, Botyu-Kagaku, 40:14.
4. Hama, H., and Iwata, T. 1972. Sensitive aliesterase to a carbamate insecticide, in the resistant strains of the green rice leafhopper. Appl. Ent. Zool. 7:177.
5. Hama, H., and Yamasaki, Y. 1981. Individual variation of acetylcholinesterase sensitivity to propoxur in the green rice leafhopper, *Nephotettix cincticeps* Uhler (Hemiptera: Deltocephalidae). Appl. Ent. Zool. 16:52-54.
6. Heinrichs, E. A., Chelliah, S., Aquino, G., Arceo, M., Valencia, S. and Fabellar, L. 1977. Insecticide evaluation 1977. Philippines: Dept. of Entomology, IRRI, 42p.
7. Hosda, A., and Fujiwara, A. 1977. Changes of susceptibility in the carbamate insecticide-resistant green rice leafhopper, *Nephotettix cincticeps* Uhler during the continuous selection with diazinon, propaphos and propaphos: NAC mixture. Bull. Hiroshima Pref. Agr. Sta., 39:21.
8. Kassai, T., and Ozaki, K. 1984. Resistance patterns in the rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål (Hemiptera: Delphacidae), after selection with carbaryl and propoxur. Jap. J. Ent. Zool. 28:20-24.
9. Lin, Y. H., Sun, C. N. and Feng, H. T. 1979. Resistance of *Nilaparvata lugens* to MIPC and MTMC in Taiwan. J. Econ. Entomol. 72:90-93.
10. Miyata, T., Saito, T., Kassai, T., and Ozaki, K. 1983. In vitro degradation of malathion by organophosphate resistant and susceptible strains of brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål). J. pesticide Sci. 8:27-31.
11. Okuma, M., and Ozaki, K. 1969. Development of resistance to sumithion and malathion in the small brown planthopper, *Laodelphax striatellus* Fallén. Pro. Assoc. pl. Prot. Shikoku, 4:45.
12. Ozaki, K. 1969. The resistance to organophosphorus insecticides of green rice leafhopper, *Nephotettix cincticeps* Uhler, and the smaller brown planthopper, *Laodelphax striatellus* Fallén. Rev. Plant Prot. Res. 2:1-12.
13. Ozaki, K., Sasaki, Y. Ueda, M. and Kassai, T. 1973. Results of the alternate selection with two insecticide and the continuous selection with mixtures of two or three ones of *laodelphax striatellus* Fallèn. Botyu-Kagaku, 38:22.

Resistance Patterns in the Brown Planthopper *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae) after Selection with four Insecticides and their Combinations

Shun-Chung Wang, Te-Yeh ku and Yu-I Chu

Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Wufeng, Taichung; Food and Agriculture Department, Council of Agriculture, Executive Yuan; and Department of Plant Pathology and Entomology, National Taiwan University, Taipei, Taiwan, R. O. C. respectively.

(Accepted for publication: October 14, 1987)

ABSTRACT

Wang, S. C., Ku, T. Y. and Chu, Y. I. 1988. Resistance patterns in the brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae) after selection with four insecticides and their combinations. Plant Prot. Bull. 30 : 59—67.

Malathion-selected and carbofuran-selected strains developed 7.2 and 8-fold resistance to malathion and carbofuran, respectively, within 8 generations. The frequency of individuals with high aliesterase activity was increased gradually in each generation selected by carbofuran. Strains selected successively by carbaryl + malathion, carbofuran + malathion, carbaryl + monocrotophos and carbofuran + monocrotophos over 8 generation period, the LC₅₀ values were the same as that of original susceptible strains.

Key words: resistance level, selection, acetylcholinesterase, aliesterase.