

取食不同寄主植物的甜菜夜蛾 对药剂敏感性的变化

王 沫 吴承春 朱福兴

(华中农业大学植物保护系, 武汉 430070)

摘要: 初步探讨了取食不同寄主植物的甜菜夜蛾对药剂敏感性及其体内酶活性的变化。结果表明: 取食不同寄主植物的甜菜夜蛾对灭多威、溴氰菊酯的敏感性变化较大, 最大 LD_{50} 之比分别达 17.3 和 44.9 倍, 而对辛硫磷的敏感性变化不大, 最大 LD_{50} 之比为 1.9 倍; 取食不同寄主植物的甜菜夜蛾体内谷胱甘肽-S-转移酶的活性差异不显著, 而羧酸酯酶活性、多功能氧化酶脱甲基作用差异显著, 其中羧酸酯酶的活性变化与对灭多威敏感性的变化相一致。因此, 羧酸酯酶可能是寄主植物影响甜菜夜蛾对灭多威敏感性变化的因素之一。

关键词: 甜菜夜蛾, 寄主植物, 药剂敏感性, 解毒酶活性

昆虫取食不同寄主植物后, 受植物组织中代谢物质特别是次生代谢物质的影响, 对药剂的敏感性发生变化, 这一现象已受到广泛注意^[1,2]。植物中存在某些次生代谢物对昆虫体内的解毒酶往往具诱导作用^[3], 人们把这种诱导作用认为是昆虫取食适应性的重要机制之一。同时, 为害虫的抗药性发展研究提供了理论依据。

甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* (Hübner) 是一种世界性害虫, 寄主范围广, 除危害甘蓝、白菜、辣椒、茄子、豇豆等蔬菜外, 还危害玉米、棉花等农作物^[4]。目前已有报道, 甜菜夜蛾已上升为重要害虫, 且对许多药剂的抗性水平很高^[5]。抗性的发展如此迅猛, 除了药剂选择压的影响外, 可能与取食不同寄主植物有关。作者从该角度出发, 初步探讨了取食不同寄主植物的甜菜夜蛾对药剂的敏感性变化情况, 并比较了取食不同寄主植物后解毒酶活性差异程度, 以获悉寄主植物影响甜菜夜蛾抗药性的内在因素。

1 材料与方法

1.1 试虫

室内人工饲料饲养的敏感品系, 饲养方法参照李广宏(1998)^[6]。饲养条件: 温度 $27 \pm 1^\circ\text{C}$, RH80% 左右, 光照与黑暗之比(h) 14:10。取室内的初孵幼虫, 分别用不同的新鲜寄主

基金项目: 湖北省“九五”攻关项目资助(961P1103)

作者简介: 王沫(1956-), 男, 副教授, 主要从事农药药理学方面的研究(E-mail: wangmo@mail.hzau.edu.cn)

收稿日期: 2002-02-03

植物(棉花、玉米、番茄、豇豆、辣椒)饲养至 3 龄,供生物测定和酶活性测定用。寄主植物为室外自然条件下生长。

1.2 生物测定

1.2.1 供试药剂:98% 灭多威原粉,江苏惠山农药厂生产;98% 溴氰菊酯原粉,原法国 ROUSSEL——UCLAF 公司生产;88% 辛硫磷原油,连云港第二农药厂生产。

1.2.2 测定方法:取不同饲料饲养的 3 龄幼虫,将药剂以丙酮配成 6~7 个浓度,用毛细管点滴器(0.09 μ l)点滴于幼虫胸背,每个浓度 10 头虫,重复 3 次,以丙酮作对照。24h 检查结果,试虫以不能正常爬行为死亡。

1.3 酶活性测定

1.3.1 羧酸酯酶活性测定:取 3 龄幼虫 20 头,用磷酸缓冲液 3ml 于玻璃匀浆器中匀浆,匀浆液于 10000r/min 高速冷冻离心机下离心 10min,上清液作为酶源母液,测定时视活性大小作相应稀释。下同。参照 van Aspere^[7]的方法,取 5ml 3×10^{-4} mol/L α -醋酸萘酯底物(内含 0.2ml 1×10^{-3} mol/L 的毒扁豆碱)、1ml 酶液摇匀,以 0.04mol/L pH7.0 磷酸缓冲液作对照,于 37℃水浴温育 30min 后,立即加入显色剂摇匀,显色剂为 1% 固蓝 B 盐和 5% 十二烷基硫酸钠(SDS)于用前 2:5 混合配成,显色 0.5 h,待出现稳定的蓝绿色后,在 755B 型紫外可见分光光度计 600nm 处测 OD 值。

1.3.2 谷胱甘肽-S-转移酶的活性测定:参照 Booth 的方法^[8],取 0.5ml 酶液、0.4ml 0.01mol/L 1-氯-2,4-二硝基苯(CDNB)、0.4ml 0.01mol/L 还原型谷胱甘肽(GSH)、2.7ml 0.1mol/L pH6.5 的磷酸缓冲液,以不加酶液为对照。于 37℃水浴温育 5min 后,加一滴碘甲烷终止反应,快速于 340nm 处比色。根据 CDNB 的摩尔吸光系数 $9.5(\text{mmol/L})^{-1}\text{cm}^{-1}$ 计算酶活力。

1.3.3 多功能氧化酶(MFO)的脱甲基作用:参照 Hansen 和 Hodgson 方法^[9],反应总体积为 3ml。1ml 酶液、1ml 2×10^{-3} mol/L 底物对硝基茴香醚和 0.1ml 0.5mmol/L 辅酶 II(NADPH),0.9ml 0.1mol/L pH7.8 磷酸缓冲液。37℃反应 30min 后,加 1ml 1mol/L HCl 终止反应。用 5ml 三氯甲烷萃取,去水相;再用 3ml 0.5mol/L NaOH 反萃取,取 NaOH 水相,于 400nm 处比色。以不加 NADPH 为对照,据对硝基苯酚 NaOH 液的摩尔吸光系数 $2.008 \times 10^4(\text{mol/L})^{-1}\text{cm}^{-1}$ 计算产物含量。

1.4 蛋白质含量测定

参照 Bradford(1976)的考马斯亮蓝法^[10]。

2 结果与分析

2.1 取食不同寄主植物的甜菜夜蛾对灭多威敏感性变化

甜菜夜蛾取食 5 种寄主植物后,对灭多威的敏感性变化较大,与人工饲料饲养的试虫比较,取食棉花和辣椒后,敏感性增强,LD₅₀值只为人工饲料的 32% 和 42%,而取食番茄、豇豆和玉米后,敏感性下降,LD₅₀值分别是取食人工饲料的 1.63、3.72 和 5.54 倍,取食棉花和玉米的 LD₅₀值相差 17.3 倍(表 1)。

表 1 取食不同寄主植物的甜菜夜蛾 3 龄幼虫对灭多威敏感性变化

Table 1 Susceptibility of the 3rd instar larvae of the beet armyworm fed on different host plants to methomyl

寄主植物 Host plants	毒力回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	LD ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{individual}$) Median lethal dose	95%置信限 95% Faith limit	比值 Ratio
人工饲料 Artificial diet	$Y = 6.1435 + 1.2898X$	0.9904	0.1298	0.0671 ~ 0.2511	1.00
棉花 Cotton	$Y = 5.7549 + 0.5465X$	0.9582	0.0416	0.0097 ~ 0.1789	0.32
辣椒 Capsicum	$Y = 7.2309 + 1.7587X$	0.9815	0.0539	0.0374 ~ 0.0776	0.42
番茄 Tomato	$Y = 6.2408 + 1.8418X$	0.9950	0.2120	0.1566 ~ 0.2871	1.63
豇豆 Cowpeas	$Y = 5.5538 + 1.7548X$	0.9958	0.4835	0.3314 ~ 0.7054	3.72
玉米 Corn	$Y = 5.4363 + 3.0425X$	0.9835	0.7188	0.5527 ~ 0.9347	5.54

2.2 取食不同寄主植物的甜菜夜蛾对溴氰菊酯敏感性变化

由表 2 可知,甜菜夜蛾取食辣椒后,对溴氰菊酯的敏感性增大,与人工饲料饲养的相比,LD₅₀值相差 10 倍。取食番茄、豇豆和棉花后,对溴氰菊酯的敏感性均下降。尤以取食棉花的对溴氰菊酯的敏感性下降最为明显,与辣椒相比,LD₅₀值相差 44.9 倍。而取食棉花后对灭多威的敏感性却表现为增强(表 1),这表明,甜菜夜蛾取食不同寄主植物对同一药剂具有不同的敏感性,取食同一寄主植物对不同药剂也会表现出不同的敏感性。

表 2 取食不同寄主植物的甜菜夜蛾 3 龄幼虫对溴氰菊酯敏感性变化

Table 2 Susceptibility of the 3rd instar larvae of the beet armyworm fed on different host plants to deltamethrin

寄主植物 Host plants	毒力回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	LD ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{individual}$) Median lethal dose	95%置信限 95% Faith limit	比值 Ratio
人工饲料 Artificial diet	$Y = 12.9323 + 2.4940X$	0.9267	0.00066	0.000483 ~ 0.000898	1.00
辣椒 Capsicum	$Y = 8.4640 + 0.8294X$	0.9602	0.00007	0.000038 ~ 0.000117	0.10
番茄 Tomato	$Y = 7.3040 + 0.7892X$	0.9668	0.00120	0.000398 ~ 0.003646	1.83
豇豆 Cowpeas	$Y = 8.7372 + 1.4046X$	0.9412	0.00218	0.000157 ~ 0.003045	3.31
棉花 Cotton	$Y = 8.6783 + 1.4572X$	0.9989	0.00299	0.001928 ~ 0.004637	4.54

2.3 取食不同寄主植物的甜菜夜蛾对辛硫磷敏感性变化

结果(表 3)表明:取食 5 种饲料后的 3 龄幼虫对辛硫磷的敏感性变化不大。辛硫磷对取食棉花、番茄和辣椒后的 3 龄幼虫 LD₅₀值略小于取食人工饲料饲养后的 3 龄幼虫 LD₅₀值,只有取食豇豆的 LD₅₀值略大于人工饲料饲养的 3 龄幼虫 LD₅₀值,其比值也仅 1.42。

表 3 取食不同寄主植物的甜菜夜蛾 3 龄幼虫对辛硫磷敏感性变化

Table 3 Susceptibility of the 3rd instar larvae of the beet armyworm fed on different host plants to phoxim

寄主植物 Host plants	毒力回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	LD ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{individual}$) Median lethal dose	95%置信限 95% Faith limit	比值 Ratio
人工饲料 Artificial diet	$Y = 7.0667 + 2.2344X$	0.9865	0.1189	0.0950 ~ 0.1487	1.00
棉花 Cotton	$Y = 7.6262 + 2.4759X$	0.9838	0.0870	0.0672 ~ 0.1125	0.73
番茄 Tomato	$Y = 6.3159 + 1.3242X$	0.9051	0.1014	0.0722 ~ 0.1425	0.85
辣椒 Capsicum	$Y = 6.6608 + 1.6902X$	0.9701	0.1041	0.0701 ~ 0.1547	0.88
豇豆 Cowpeas	$Y = 6.6852 + 2.1856X$	0.9837	0.1694	0.1253 ~ 0.2290	1.42

2.4 取食不同寄主植物的甜菜夜蛾体内 3 种解毒酶活性比较

检测取食不同寄主植物后的甜菜夜蛾 3 龄幼虫体内羧酸酯酶、谷胱甘肽-S-转移酶

和 MFO 的活性(表 4)表明:取食辣椒和棉花与取食人工饲料后的羧酸酯酶活性比较,表现为下降,而取食番茄、豇豆和玉米的羧酸酯酶活性则高于取食人工饲料的羧酸酯酶活性;取食 5 种植物谷胱甘肽-S-转移酶活性均未显示出明显的影响;取食不同寄主植物的甜菜夜蛾 MFO 的脱甲基作用存在显著差异,取食番茄和玉米与取食人工饲料的比值分别为 0.45 和 0.79,都有所降低;而取食辣椒和豇豆的则比取食人工饲料的活性有所增强。

表 4 取食不同寄主植物的甜菜夜蛾 3 龄幼虫 3 种酶活性测定

Table 4 Activities of several enzymes from the 3rd instar larve of the beet armyworm fed different host plants

寄主植物 Host plants	羧酸酯酶 CarE			谷胱甘肽-S-转移酶 GST			MFO 的脱甲基作用 O-demethylation of MFO		
	活性 Activity	比值 Ratio	显著性 Signi- ficance	活性 Activity	比值 Ratio	显著性 Signi- ficance	活性 Activity	比值 Ratio	显著性 Signi- ficance
人工饲料 Artificial diet	105.88 ± 1.38	1.00	b	112.51 ± 3.59	1.00	a	0.272 ± 0.003	1.00	c
辣椒 Capsicum	74.93 ± 1.45	0.71	a	109.54 ± 11.02	0.97	a	0.319 ± 0.005	1.17	d
棉花 Cotton	64.41 ± 1.38	0.61	a	141.32 ± 28.11	1.26	a	0.248 ± 0.004	0.91	c
番茄 Tomato	117.82 ± 3.57	1.11	c	159.81 ± 31.26	1.42	a	0.122 ± 0.002	0.45	a
豇豆 Cowpeas	136.85 ± 5.62	1.29	d	107.62 ± 7.89	0.96	a	0.303 ± 0.006	1.11	d
玉米 Corn	158.03 ± 2.85	1.49	e	118.57 ± 6.29	1.05	a	0.216 ± 0.016	0.79	b

注:酶活性单位 active unit: $\mu\text{mol/L} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg pro.}^{-1}$; 新复极差分析 Duncan's test: $\alpha = 0.05$ 。

3 讨论

从本研究结果看,取食不同寄主植物的甜菜夜蛾对药剂的敏感性发生了不同程度的变化,而且有的相差比较大。对氨基甲酸酯类灭多威的 LD_{50} 为 $0.042 \sim 0.72 \mu\text{g}/\text{头}$ 。取食棉花的甜菜夜蛾对溴氰菊酯的 LD_{50} 比取食辣椒的大 44.9 倍。而对于有机磷类的辛硫磷,敏感性变化不大,最大相差倍数只有 1.9 倍。

据李云寿等^[11]对小菜蛾的研究表明,取食不同寄主植物的小菜蛾对药剂的敏感性变化具有不稳定性,属健壮耐性范畴。取食不同寄主植物的甜菜夜蛾对三类药剂中的代表品种均能发生敏感性变化,其实质如何,还有待进一步探讨。

由于不同寄主植物体内所含次生性代谢物质的量及性质不同,会激活或抑制昆虫体内代谢活动,即引起昆虫体内的解毒酶系统发生一系列变化。对 3 种解毒酶的活性测定表明:取食不同寄主植物的甜菜夜蛾体内酶的变化确实存在差异。其中羧酸酯酶和多功能氧化酶的活性存在显著性差异,谷胱甘肽-S-转移酶的活性差异则不显著。寄主植物可以诱导羧酸酯酶的活性变化,导致昆虫对药剂的敏感性不同,这一结论在棉铃虫、棉蚜、小菜蛾等昆虫中都得到了证实^[12~14]。多功能氧化酶是一类与抗性发展密切相关的重要酶系。有报道指出,多食性昆虫中,多功能氧化酶的环氧化作用可被植物中的次生代谢物诱导产生变化^[15]。作者研究了其脱甲基作用,发现寄主植物也会引起其活性的变化,且存在显著性差异,但这种差异又不和试虫对所测药剂的敏感性变化相一致,这可能与多功能氧化酶的底物广泛性有关。研究初步显示,寄主植物可以引起甜菜夜蛾药剂敏感性的变化,这给甜菜夜蛾综合治理提供了理论依据,对延缓甜菜夜蛾的抗性发展、合理的作物

布局、减少农药的用量等都具有一定的指导意义。

参 考 文 献

- 1 Wood K A, Wilson B H, *et al.* Influence of host plant on the susceptibility of the fall armyworm to insecticides. *J Econ. Entomol.*, 1981, 74: 96 - 98
- 2 Yu S J. Induction of detoxifying enzymes by allelochemicals and host plants in the fall armyworm. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 1983, 19: 330 - 336
- 3 Riskallah M R, *et al.* Host plant induction of microsomal monooxygenase activity in relation to diazinon metabolism and toxicity in larva of the tobacco budworm, *Heliothis virescens* (F.). *Pestic. Biochem. Physiol.*, 1986, 25: 233 - 247
- 4 陈永兵, 张纯胃, 胡丽秋. 寄主植物对甜菜夜蛾生长发育的影响. *昆虫知识*, 1999, 36(6): 332 - 334
- 5 王晓容, 黎永栈, 卢辉红. 甜菜夜蛾研究进展. *仲恺农业技术学院学报*, 1995, 8(2): 87 - 93
- 6 李广宏, 陈其峰. 甜菜夜蛾的人工饲料的研究. *中山大学学报(自然科学版)*, 1998, 37(4): 1 - 5
- 7 van Aspere K. A study of housefly esterases by means of a sensitive colorimetric method. *J. Insect Physiol.*, 1962, 8: 401 - 410
- 8 Booth J, *et al.* An enzyme from rat liver catalyzing conjugations with glutathione. *Biochem. J.*, 1961, 79: 516
- 9 Hansen L G, Hodgson E. Biochemical characteristics of insect microsomes: N- and O-demethylation. *Biochem. Pharmacol.*, 1971, 20: 1569 - 1678
- 10 Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein - dye binding. *Analytical Biochem.*, 1976, 72: 248 - 254
- 11 李云寿, 罗万春, 赵善欢. 取食不同寄主植物的小菜蛾对溴氰菊酯和氯氰菊酯敏感性的变化. *山东农业大学学报*, 1996, 27(3): 269 - 274
- 12 谭维嘉, 赵焕香. 取食不同寄主植物的棉铃虫对溴氰菊酯敏感性的变化. *昆虫学报*, 1990, 33(2): 155 - 160
- 13 姜永幸, 郭子元. 不同棉花品种对棉蚜羧酸酯酶活性影响的研究. *棉花学报*, 1996, 8(4): 215 - 218
- 14 李云寿, 罗万春, 赵善欢. 不同寄主植物对小菜蛾羧酸酯酶活性的影响. *山东农业大学学报*, 1996, 27(2): 147 - 151
- 15 Brattsten L B, Wilkinson C F, Eisner T. Herbivore-plant interactions: mixed-function oxidases and secondary plant substances. *Science*, 1977, 196: 1349 - 1352

Studies on insecticide susceptibility of the beet armyworm fed on different host plants

Wang Mo Wu Chengchun Zhu Fuxing

(Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: Different host plants were fed to the beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner). Susceptibility to insecticides and activities of detoxifying enzymes were measured. Results showed that the maximal susceptibility differences of the beet armyworm reared on host plants to methomyl and deltamethrin were 17.3 and 44.9 times respectively, but to phoxim was only 1.9 times. Studies on activities of detoxifying enzymes indicated that activities of carboxylesterase (CarE), microsomal oxidases (O-demethylase) were significantly different between strains fed on different host plants, but glutathione-S-transferases activities were not much different. Activity variations of CarE were in consistent with susceptibility to methomyl.

Key words: *Spodoptera exigua*, host plants, susceptibility to insecticides, detoxifying activities