

不同寄主植物对甜菜夜蛾解毒酶活性的影响

宋月芹^{1,2}, 孙会忠¹, 李涛¹, 仵均祥²

(¹河南科技大学林学院, 河南洛阳 471003; ²西北农林科技大学植保学院, 陕西杨凌 712100)

摘要:通过离体酶活性测定, 研究取食苜蓿、苋菜、生菜、白菜、玉米5种寄主植物对甜菜夜蛾磷酸酯酶、谷胱甘肽-S-转移酶和乙酰胆碱酯酶活性的影响。结果表明甜菜夜蛾取食寄主植物后, 体内磷酸酯酶、谷胱甘肽-S-转移酶和乙酰胆碱酯酶活性均发生变化。除取食苋菜的甜菜夜蛾碱性磷酸酯酶活性与取食苜蓿、白菜的之间差异不显著外, 其他各处理之间差异均显著。其中玉米对这3种酶的诱导能力最低。

关键词:甜菜夜蛾; 寄主植物; 磷酸酯酶; 谷胱甘肽-S-转移酶; 乙酰胆碱酯酶

中图分类号: S435.62

文献标识码: A

论文编号: 2009-1017

Effect of the Host Plants on Activity of 4 Detoxifying Enzymes in Beet Armyworm, *Spodoptera exigua*

Song Yueqin^{1,2}, Sun Huizhong¹, Li Tao¹, Wu Junxiang²

(¹College of forestry, Henan Sci-Tech University, Luoyang He'nan 471003;

²College of Plant Protection, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling Shaanxi 712100)

Abstract: The effect of host plants, including alfalfa, amaranth, lettuce, cabbage, corn, on activity of acid phospholipase, alkaline phospholipase, glutathione-s-transferase and acetylcho linesterase in beet army, *Spodoptera exigua* was studied. Results showed that significant activity changes of acid phospholipase, alkaline phospholipase, glutathione-s-transferase and acetylcho linesterase were found in *Spodoptera exigua* larvae feeding on different host plants. The others have marked difference between one another except no difference on activity of basic phospholipase between feeding on amaranth and feeding on alfalfa, cabbage.

Key words: beet armyworm/*Spodoptera exigua*, host plant, phospholipase, glutathione-S-transferase, acetylcho linesterase

0 引言

甜菜夜蛾[*Spodoptera exigua*(Hübner)]是多种作物的重要害虫。近年来, 由于甜菜夜蛾田间种群对多种杀虫剂产生了抗药性, 原有化学农药防治效果显著下降, 已给中国的农业生产造成了巨大的损失^[1]。甜菜夜蛾对杀虫剂的抗药性是否与寄主植物次生物质对其解毒酶系的诱导有关, 一直是昆虫毒理学家感兴趣的问题, 对这个问题的探讨无疑有助于甜菜夜蛾田间种

群的抗性治理, 在施用杀虫剂时, 对不同作物上的甜菜夜蛾采用不同的浓度, 则可以达到经济、安全用药的目的, 同时延缓甜菜夜蛾抗药性的发展。昆虫体内的乙酰胆碱酯酶、磷酸酯酶、谷胱甘肽-S-转移酶在杀虫剂抗性机制中起着重要作用。笔者通过研究不同寄主植物对甜菜夜蛾幼虫乙酰胆碱酯酶、磷酸酯酶、谷胱甘肽-S-转移酶活性变化, 探讨昆虫抗药性生理机制, 为指导防治适期及采取适当防治措施提供理论依据。

基金项目:公益性行业(农业)科研专项经费项目“甜菜夜蛾防控技术研究与示范”(200803007)。

第一作者简介:宋月芹, 女, 1977年出生, 硕士, 讲师, 主要从事农业昆虫与害虫防治研究。通信地址: 471003 河南洛阳河南科技大学林学院, Tel: 0379-64282345, E-mail: songyueqin6@163.com。

通讯作者:仵均祥, 男, 1961年出生, 博士, 教授, 从事农业昆虫与害虫防治研究。通信地址: 712100 陕西杨凌西北农林科技大学植保学院, Tel: 029-87092263, E-mail: junxw@nwsuaf.edu.cn。

收稿日期:2009-05-13, **修回日期:**2009-06-04。

1 材料与方

1.1 供试虫源及寄主植物

供试虫源为研究室室内饲养,参考李广宏等(1998)^[2]的方法,在温度(27±1)℃,相对湿度(70±5)%,光周期L:D=14:10条件下,利用人工饲料(artificial diet)饲养。试验前挑选比较整齐一致的初孵幼虫,用各供试寄主植物嫩叶于室内同等条件饲养至试验所需4龄期。

供试寄主植物苜蓿(*Medicago sativa* L.)、苋菜(*Amaranthus viridis* L.)、生菜(*Lactuca Sativa* L.)、白菜(*Brassica campestris* L.)、玉米(*Zea mays* L.)、均为自然条件下生长,未经任何药剂处理。

1.2 酶液提取

取供试甜菜夜蛾4龄幼虫4头,置玻璃匀浆器中,加入预冷的pH 7.0、浓度为0.1 mol/L的磷酸缓冲液(内含质量分数为1%的聚乙烯吡咯烷酮),冰浴条件下匀浆,所得匀浆液于12 000 g, 0~4℃,离心20 min,其上清液即为待测酶液。

1.3 酶活性测定

1.3.1 酸性磷酸酯酶(ACP)和碱性磷酸酯酶(AKP)活性测定 酸性和碱性磷酸酯酶分解磷酸苯二钠,产生游离酚和磷酸,酚在碱性溶液中与4-氨基安替吡啉作用,经铁氰化钾氧化生成红色醌衍生物,根据红色深浅测定酶活力的高低。采用南京建成生物工程研究所提供的试剂盒说明进行。每个处理重复3次。

1.3.2 谷胱甘肽-S-转移酶(GST)活性测定 谷胱甘肽-S-转移酶具有催化还原型谷胱甘肽与1-氯-2,4-二

硝基苯结合的能力,在一定反应时间内,其活性高低与反应前后底物浓度的变化呈线性关系。试验通过检测谷胱甘肽浓度的高低来反映谷胱甘肽-S-转移酶活力的大小,谷胱甘肽浓度降低越多,则谷胱甘肽-S-转移酶活力越大,反之则小。采用南京建成生物工程研究所提供的试剂盒说明进行。每个处理重复3次。

1.3.3 乙酰胆碱酯酶(AChE)活性测定 乙酰胆碱酯酶水解乙酰胆碱生成胆碱及乙酸,胆碱与巯基显色剂反应生成TNB(对称三硝基苯)黄色化合物,根据颜色深浅进行比色定量,水解产物胆碱的数量可反映胆碱酯酶的活力。采用南京建成生物工程研究所提供的试剂盒说明进行。每个处理重复3次。

1.4 蛋白质含量测定

考马斯亮兰法,按照南京建成生物工程研究所提供的考马斯亮兰蛋白测定试剂盒说明进行。

2 结果与分析

2.1 不同寄主植物对甜菜夜蛾磷酸酯酶活性的影响

表1显示出,取食苋菜的甜菜夜蛾碱性磷酸酯酶活性与取食苜蓿、白菜的之间差异不显著,而取食生菜和玉米的之间差异显著($P<0.05$)。取食寄主植物不同,甜菜夜蛾酸性磷酸酯酶活性明显不同,各处理间差异极显著($P<0.01$)。取食苜蓿的甜菜夜蛾酸性磷酸酯酶活性最大,达1653.31 $\mu\text{g/gprot}$;取食玉米的甜菜夜蛾酸性磷酸酯酶活性最小,仅446.60 $\mu\text{g/gprot}$,前者是后者的3.7倍。酸性磷酸酯酶活性顺序依次是玉米<生菜<白菜<苋菜<苜蓿。

表1 寄主植物对甜菜夜蛾磷酸酯酶活性的影响

寄主植物	碱性磷酸酯酶活性/ ($\mu\text{g/gprot}$)	显著性测定		比值	酸性磷酸酯酶活性/ ($\mu\text{g/gprot}$)	显著性测验		比值
		0.05	0.01			0.05	0.01	
苜蓿	623.79 ± 18.11	a	A	2.66	1653.31 ± 21.97	a	A	3.70
苋菜	617.67 ± 17.85	ab	A	2.63	1466.96 ± 21.31	b	B	3.28
白菜	527.57 ± 16.32	b	B	2.25	1285.63 ± 16.27	c	C	2.88
生菜	454.12 ± 13.89	c	C	1.94	663.19 ± 15.86	d	D	1.48
玉米	234.63 ± 17.17	d	D	1.00	446.60 ± 4.30	e	E	1.00

2.2 不同寄主植物对甜菜夜蛾乙酰胆碱酯酶活性的影响

取食寄主植物不同,甜菜夜蛾乙酰胆碱酯酶活性明显不同。取食白菜的甜菜夜蛾乙酰胆碱酯酶活性最高,为1.59 $\mu\text{g/mgprot}$,而取食玉米的最低,为0.21 $\mu\text{g/mgprot}$,前者是后者的7.57倍。乙酰胆碱酯酶活性依次是玉米<苋菜<苜蓿<生菜<白菜(见表2)。

2.3 不同寄主植物对甜菜夜蛾谷胱甘肽-S-转移酶活性的影响

取食不同寄主植物的甜菜夜蛾谷胱甘肽-S-转移

酶活性与乙酰胆碱酯酶活性一样,也具有显著差异,并达到极显著的水平。取食生菜的甜菜夜蛾谷胱甘肽-S-转移酶活性最高,为757.26 $\mu\text{g/mgprot}$,而取食玉米的最低,为112.12 $\mu\text{g/mgprot}$,前者是后者的6.75倍。谷胱甘肽-S-转移酶活性次序依次为玉米<苋菜<白菜<苜蓿<生菜(见表3)。

3 小结与讨论

在植食性昆虫与寄主植物的协同演化关系中,次生性代谢物起着十分重要的作用。一方面,寄主植物

表2 寄主植物对甜菜夜蛾乙酰胆碱酯酶活性的影响

寄主植物	乙酰胆碱酯酶活性/ ($\mu\text{g}/\text{mgprot}$)	显著性测定		比值
		0.05	0.01	
白菜	1.59 ± 0.03	a	A	7.57
生菜	0.77 ± 0.02	b	B	3.67
苜蓿	0.61 ± 0.06	c	C	2.90
莴菜	0.55 ± 0.03	d	C	2.62
玉米	0.21 ± 0.02	e	D	1.00

在受到昆虫侵害时可以产生含氮化合物、酚类化合物、光敏化合物等次生代谢物防御昆虫,即诱导防御,植物对昆虫的这种诱导防御包括忌避、阻碍取食和抗生等化学作用^[3];另一方面,植食性昆虫对植物中的有毒成分又发展了解毒、避毒、储毒等适应方式^[4],昆虫在取食寄主植物及其所含的次生性代谢物的同时,可以被诱导产生解毒酶系。

磷酸酯酶是昆虫体内对杀虫剂进行解毒代谢的重要解毒酶系,与抗性有关^[5-6]。研究结果显示,取食莴菜的甜菜夜蛾碱性磷酸酯酶活性与取食苜蓿、白菜的之间差异不显著,而取食生菜和玉米的之间差异显著。甜菜夜蛾取食不同寄主植物后,对酸性磷酸酯酶活性的影响达到极显著水平。

乙酰胆碱酯酶是有机磷、氨基甲酸酯类杀虫剂的重要靶标酶,该酶对药剂敏感的改变会影响到杀虫药剂的毒力。李云寿等^[7]研究了取食不同寄主植物的小菜蛾体内乙酰胆碱酯酶活性的变化情况,发现寄主植物对小菜蛾的乙酰胆碱酯酶活性没有影响。而高希武等^[8]研究发现,寄主植物对棉蚜乙酰胆碱酯酶具有明显的影响,研究结果也表明,寄主植物可以显著影响甜菜夜蛾乙酰胆碱酯酶的活性。一般认为,乙酰胆碱酯酶并非解毒酶,寄主植物对这种非解毒酶的诱导原因有待进一步研究。

谷胱甘肽-S-转移酶是害虫体内重要的解毒酶系,一些外源化合物,包括苯巴比妥、杀虫剂、寄主植物和次生物质,均可诱导谷胱甘肽-S-转移酶^[9]。在对外源化合物的解毒代谢和对杀虫剂的抗性机制中起着重要的作用^[10]。研究表明,取食不同寄主植物的甜菜夜蛾

表3 寄主植物对甜菜夜蛾谷胱甘肽-S-转移酶活性的影响

寄主植物	谷胱甘肽-S-转移酶活性/ ($\mu\text{g}/\text{mgprot}$)	显著性测定		比值
		0.05	0.01	
生菜	757.26 ± 15.64	a	A	6.75
苜蓿	494.43 ± 19.35	b	B	4.41
白菜	421.53 ± 16.70	c	C	3.76
莴菜	401.23 ± 14.66	d	D	3.58
玉米	112.12 ± 19.09	e	E	1.00

体内谷胱甘肽-S-转移酶活性之间具有极显著差异。

试验结果还显示,玉米对甜菜夜蛾体内磷酸酯酶、谷胱甘肽-S-转移酶和乙酰胆碱酯酶诱导能力最低,可能是因为不同寄主植物中所含的次生物质种类不同,因而对酶的诱导能力不同,也可能是玉米不是甜菜夜蛾最适宜的寄主,具体定位还须进一步的研究。

参考文献

- [1] 苏建亚.甜菜夜蛾的迁飞及在我国的发生[J].昆虫知识,1998,35(1):55-57.
- [2] 李广宏,陈其津,庞义.甜菜夜蛾人工饲料的研究[J].中山大学学报,1998,37(4):125.
- [3] Whittaker L, Feeny P P. Allelochemicals: chemical interaction between species [J]. Science, 1971, 171: 757-770.
- [4] 钦峻德.昆虫与寄主植物的关系——论昆虫与植物相互作用及其演化[M].北京:科学出版社,1987:30-58.
- [5] 林永丽,郝蕙玲,孙锦程,等.德国小蠊羧酸酯酶、酸性磷酸酯酶和碱性磷酸酯酶的活力与抗药性的关系[J].海军医学杂志,2001,22(2):105-107.
- [6] 李鹏武,宗静,高希武,等.寄主植物对桃蚜羧酸酯酶和乙酰胆碱酯酶的诱导作用[J].植物保护,1997,23(2):14-16.
- [7] 李云寿,罗万春,赵喜欢.不同寄主植物对小菜蛾羧酸酯酶活性的影响[J].山东农业大学学报,1996,27(2):147-151.
- [8] 高希武.寄主植物对棉蚜羧酸酯酶活力的影响[J].昆虫学报,1992,35(3):267-272.
- [9] Yu S J. Induction of new glutathione -S-transferase isozymes by allelochemicals in the fall armyworm [J]. Pesti Biochem Physiol, 1999, 63:163-171.
- [10] Yu S J. Hostplant induction of glutathione -S-transferase in the fall armyworm [J]. Pestic Biochem Physiol, 1982, 18:101-106.