

· 研究简报 ·

烟碱和芸香苷对斜纹夜蛾药剂敏感性及相关酶活性的影响

周 郑^{1,2}, 程新胜^{*1}, 王方晓¹, 陈树仁²

(1. 中国科学技术大学 烟草与健康研究中心, 合肥 230051; 2. 安徽农业大学 植物保护学院, 合肥 230031)

摘 要: 以在人工饲料中添加植物次生物质的方法, 研究了取食不同含量烟碱、芸香苷的斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 3龄幼虫对银纹夜蛾核多角体病毒 (A ucaN PV)、氟虫腈及多杀菌素的敏感性, 同时测定了各处理组幼虫体内羧酸酯酶和谷胱甘肽转移酶的活性。结果表明: 烟碱能明显提高斜纹夜蛾对 3种药剂的敏感性, 且与剂量成正比; 低浓度的芸香苷可增加试虫对药剂的敏感性, 但随其剂量的升高敏感性降低。两种次生物质均能不同程度地抑制斜纹夜蛾羧酸酯酶的活性, 但可诱导谷胱甘肽转移酶的活性。

关键词: 斜纹夜蛾; 烟碱; 芸香苷; 杀虫剂; 敏感性

中图分类号: Q966; S481.1

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2007)03-0305-04

Effects of Nicotine and Rutin on the Susceptibility of *Spodoptera litura* to Insecticides and the Activities of Some Enzymes

ZHOU Zheng^{1,2}, CHENG Xin-sheng^{*1}, WANG Fang-xiao¹, CHEN Shu-ren²

(1. Research Center of Tobacco and Health of USTC, Hefei 230052, China;

2 Department of Plant Protection of Anhui Agriculture University, Hefei 230036, China)

Abstract: The susceptibilities of the 3th instar larvae of *Spodoptera litura* fed on diets treated with nicotine and rutin to A ucaN PV, fipronil and spinosad were studied. The activities of CarE and GSTs in different treated cutworms were also tested. The results showed that the nicotine enhanced significantly the susceptibility of *Spodoptera litura* to insecticides, and the susceptibility enhanced as the nicotine concentration in the diets increased. Low concentration rutin in the diets increased the susceptibility of *Spodoptera litura* to insecticide, but the susceptibility decreased as the concentration increased. The two alleochemicals restrained the activities of CarE in different degrees, however, they induced the activities of GSTs.

Key words: *Spodoptera litura*; nicotine; rutin; insecticides; susceptibility

植物在与植食性昆虫协同进化的过程中, 为应对虫害胁迫而逐渐形成了多种抗虫机制, 一些次生代谢产物就是植物应对虫害胁迫的有效化学

武器^[1]。这些次生产物可通过驱避、拒食、毒杀、抑制害虫营养代谢及吸引害虫天敌等多种方式来降低害虫对植物的危害, 同时, 次生产物也可能影响

收稿日期: 2007-01-05; 修回日期: 2007-07-05.

作者简介: 周郑 (1980-), 男, 安徽人, 硕士; *通讯作者 (Author for correspondence): 程新胜 (1961-), 男, 副教授, 主要从事昆虫化学生态学研究. 联系电话: 0551-3492135; E-mail: xscheng@ustc.edu.cn

基金项目: 国家烟草专卖局重大项目 (110200202002).

到害虫对化学药剂的敏感性^[2,3]。高希武等人^[4]曾就槲皮素对棉铃虫 *Helicoverpa amigera* (Hübner)体内一些解毒酶系和靶标酶的诱导作用进行过研究,董钧锋等^[5]就烟碱、棉酚、番茄苷和辣椒素 4种次生物质对棉铃虫和烟青虫 *Heliothis assulta* Guenee的生长及相关酶活性的影响进行了研究,吴承春等人^[6]也对不同食料对甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* Hübner的药剂敏感性及其解毒酶活性的影响进行过实验。而针对烟碱与芸香苷对斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* Fabricius的影响尚未见报道。斜纹夜蛾近年来在我国暴发频率明显增加,对烟草及其他农作物的为害日趋严重^[7]。烟碱和芸香苷是烟草中 2种内源性的次生物质^[8],笔者通过向斜纹夜蛾食料中添加烟碱及芸香苷,研究了这两种次生物质在离体情况下对斜纹夜蛾的药剂敏感性及其解毒酶活性的影响,以期对烟草生产中斜纹夜蛾的综合防治提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试药剂

2.5%的多杀菌素 (spinosad)悬浮剂 (美国陶氏益农公司);5%的氟虫腈 (fipronil)悬浮剂 (德国拜耳作物科学公司);1 000万 PB/mL的苜蓿银纹夜蛾核多角体病毒 (A ucaN PV)悬浮剂 (奥绿 1号,安徽绩溪奥绿生物工程有限公司);99.9%的烟碱 (nicotine) (Sigma公司);95%的芸香苷 (rutin) (BR,国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 供试昆虫

取本试验室在养虫室内用人工饲料继代饲养的同一代斜纹夜蛾卵块,孵化后分别饲喂添加了不同浓度烟碱和芸香苷的人工饲料,至 3龄时进行测定。以饲喂未添加次生物质人工饲料者为对照。培养条件:光暗比 12 h : 2 h (28 ±1)、相对湿度 65% ±5%。

1.3 人工饲料的制作及药剂处理

取麦芽粉 275 g、大豆粉 75 g、琼脂 25 g,加入 930 mL 水搅匀后放入高压锅,在 0.12 MPa、122 °C下高压消毒 30 min。另取山梨酸 2.0 g、酵母粉 20 g、40%的福尔马林 1 mL、对羟基苯甲酸甲酯 4 g、V_C 7 g、V_B 53.2 mg、肌醇 326.4 mL、威氏盐 9.5 mL、0.8%生物素水溶液 4 mL,加入 70 mL 水配成混合物,与先前已经过消毒的混合物混合,作为对照饲料。另制 6份相同饲料,分别依次加入烟碱、芸香苷,按照干物质质量比设置 1.0%、0.5%、0.1% 3个浓度,制成 6种处理饲料。

1.4 毒力测定方法

采用点滴法^[9]。用蒸馏水将多杀菌素和氟虫

腈稀释 100、500、1 000、1 500、2 000 倍,将 A ucaN PV 稀释 500、1 000、2 000、3 000、4 000 倍。选择大小一致的 3龄幼虫 (13 ~ 18 mg/头),20头试虫一组,每浓度 3次重复。于试虫前胸背板点滴 2 μL 药液,48 h 后检查死亡率,以毛笔轻触虫体,不产生反应者视为死亡。所得数据用 Spss12 统计分析软件进行新复极差分析。

1.5 酶活性测定方法

谷胱甘肽转移酶 (GSTs)和羧酸酯酶 (CarE)活性分别按文献 [10, 11]方法测定,蛋白质含量按考马斯亮蓝法^[12]测定。

2 结果与分析

2.1 两种次生物质对斜纹夜蛾药剂敏感性的影响比较

由表 1 可知, A ucaN PV 对取食含烟碱食料的斜纹夜蛾幼虫的 LC₅₀值明显低于对照,表明食物中的烟碱提高了幼虫对 A ucaN PV 的敏感性,且该影响随饲料中烟碱浓度的升高而增强。与烟碱不同,低剂量的芸香苷提高了试虫对 A ucaN PV 的敏感性,中等剂量处理与对照相当,但高剂量时, A ucaN PV 对斜纹夜蛾幼虫的 LC₅₀值大大高于对照,即高剂量的芸香苷反而增强了试虫对 A ucaN PV 的耐药性。

试虫对氟虫腈的敏感性变化趋势与对 A ucaN PV 的类似 (表 2):饲料中烟碱含量越高,试虫的敏感性越强;芸香苷含量越高,试虫的敏感性越弱,1.0%的芸香苷处理试虫的 LC₅₀值大于对照。

多杀菌素对取食含 3种不同剂量烟碱饲料试虫的 LC₅₀值均低于对照 (表 3),即经烟碱处理后试虫的敏感性增强;取食低剂量芸香苷的试虫的 LC₅₀值与对照相当,其他两个剂量处理则均高于对照,表明芸香苷降低了斜纹夜蛾对多杀菌素的敏感性。

2.2 次生物质对斜纹夜蛾解毒酶活性的影响

与对照相比,不同剂量的烟碱与芸香苷均能在不同程度上抑制斜纹夜蛾体内 CarE 的活性,但两者的变化趋势正好相反 (表 4):随剂量的增加,烟碱对 CarE 的抑制作用增强,而芸香苷的作用则呈减弱趋势,取食 1.0%烟碱幼虫的 CarE 活性仅为对照的 1/57。两种次生物质对 GSTs 均有诱导效应且表现一致:随食物中次生物质浓度的增加斜纹夜蛾体内 GSTs 的活性上升,1.0%烟碱和芸香苷处理试虫的 GSTs 活性分别是对照的 2.066、1.923 倍。

表 1 取食不同剂量烟碱、芸香苷的斜纹夜蛾幼虫对 AucaNPV 的敏感性

Table 1 Susceptibility of the 3rd instar larvae of *S. litura* fed on different diets to AucaNPV

| 处理 Treatment | 毒力方程 LC-P | 相关系数 R ² | 半致死浓度 LC ₅₀ / (PIB /mL) | 95%置信限 95% FL / (PIB /mL) |
|-----------------|----------------------|------------------------|---------------------------------------|------------------------------|
| 0.1% Nicotine | Y=2.074 2x - 2.470 8 | 0.995 6 | 3 997.37 ±19.42 c* | 3 906.48 ~ 4 073.58 |
| 0.5% Nicotine | Y=1.854 9x - 1.527 6 | 0.993 3 | 3 304.54 ±590.93 c | 1 055.17 ~ 6 140.33 |
| 1.0% Nicotine | Y=3.778 4x - 8.087 7 | 0.919 5 | 2 905.52 ±76.29 c | 2 577.38 ~ 3 233.81 |
| 0.1% Rutin | Y=2.394 6x - 3.601 1 | 0.995 7 | 3 907.27 ±106.35 c | 3 465.92 ~ 4 381.11 |
| 0.5% Rutin | Y=1.324 1x + 0.016 6 | 0.926 2 | 5 802.47 ±508.97 b | 4 304.13 ~ 8 218.41 |
| 1.0% Rutin | Y=1.374 0x - 0.373 4 | 0.917 6 | 8 142.76 ±572.39 a | 5 750.22 ~ 10 675.86 |
| CK | Y=1.275 5x + 0.184 9 | 0.935 6 | 5 957.56 ±454.87 b | 3 758.78 ~ 8 138.59 |

*数据后相同字母表示在 0.05 水平下差异不显著。下同。

* The values followed by the same letter are not significantly different (Duncan's new multiple range test: $\alpha = 0.05$). The same as in the following tables

表 2 取食不同剂量烟碱、芸香苷的斜纹夜蛾幼虫对氟虫腴的敏感性

Table 2 Susceptibility of the 3rd instar larvae of *S. litura* fed on different diets to fipronil

| 处理 Treatment | 毒力方程 LC-P | 相关系数 R ² | 半致死浓度 LC ₅₀ / (mg/L) | 95%置信限 95% FL / (mg/L) |
|-----------------|----------------------|------------------------|------------------------------------|---------------------------|
| 0.1% Nicotine | Y=1.409 7x + 6.869 9 | 0.900 3 | 47.16 ±5.02 c | 21.2 ~ 64.4 |
| 0.5% Nicotine | Y=1.561 2x + 7.232 6 | 0.979 3 | 37.15 ±4.29 c | 21.3 ~ 58.1 |
| 1.0% Nicotine | Y=1.764 3x + 7.636 9 | 0.955 1 | 31.90 ±0.56 c | 27.8 ~ 32.7 |
| 0.1% Rutin | Y=1.603 1x + 6.675 8 | 0.912 6 | 90.08 ±7.88 b | 51.6 ~ 119.4 |
| 0.5% Rutin | Y=1.627 7x + 6.529 1 | 0.913 1 | 114.97 ±17.75 ab | 37.9 ~ 190.7 |
| 1.0% Rutin | Y=1.678 0x + 6.525 4 | 0.987 9 | 123.29 ±14.40 a | 62.7 ~ 186.6 |
| CK | Y=1.402 0x + 6.291 3 | 0.921 5 | 119.94 ±12.20 a | 68.4 ~ 173.3 |

表 3 取食不同剂量烟碱、芸香苷的斜纹夜蛾幼虫对多杀菌素的敏感性

Table 3 Susceptibility of the 3rd instar larvae of *S. litura* fed on different diets to spinosad

| 处理 Treatment | 毒力方程 LC-P | 相关系数 R ² | 半致死浓度 LC ₅₀ / (mg/L) | 95%置信限 95% FL / (mg/L) |
|-----------------|----------------------|------------------------|------------------------------------|---------------------------|
| 0.1% Nicotine | Y=2.178 2x + 2.809 1 | 0.933 4 | 10.14 ±0.52 c | 7.84 ~ 12.36 |
| 0.5% Nicotine | Y=2.180 1x + 2.819 3 | 0.957 4 | 10.10 ±0.18 c | 9.79 ~ 11.31 |
| 1.0% Nicotine | Y=2.418 0x + 2.660 1 | 0.931 3 | 9.28 ±0.33 c | 7.66 ~ 10.53 |
| 0.1% Rutin | Y=1.887 5x + 2.731 8 | 0.916 6 | 15.91 ±0.47 b | 13.86 ~ 17.92 |
| 0.5% Rutin | Y=1.901 2x + 2.630 1 | 0.932 9 | 17.64 ±0.81 a | 14.18 ~ 21.16 |
| 1.0% Rutin | Y=2.370 9x + 1.977 9 | 0.980 2 | 18.82 ±0.53 a | 16.28 ~ 20.81 |
| CK | Y=2.176 3x + 2.449 2 | 0.912 7 | 14.86 ±0.53 b | 12.58 ~ 17.17 |

表 4 烟碱、芸香苷对斜纹夜蛾 CarE 和 GSTs 活性的影响

Table 4 Effect of nicotine and rutin on activity of CarE and GSTs in *S. litura*

| 处理 Treatment | 羧酸酯酶 CarE | | 谷胱甘肽转移酶 GSTs | |
|-----------------|--|-------------|---|-------------|
| | 活性 Activity /(mmol · L ⁻¹ · mg ⁻¹ prot · 30 min ⁻¹) | 比率 Ratio | 活性 Activity /(OD · mg ⁻¹ prot · min ⁻¹) | 比率 Ratio |
| 0.1% Nicotine | 0.431 ±0.042 c | 0.166 | 151.907 ±0.862 c | 1.281 |
| 0.5% Nicotine | 0.279 ±0.037 c | 0.108 | 182.406 ±0.865 bc | 1.538 |
| 1.0% Nicotine | 0.046 ±0.006 d | 0.018 | 245.033 ±0.857 a | 2.066 |
| 0.1% Rutin | 0.592 ±0.056 c | 0.228 | 179.683 ±1.118 bc | 1.515 |
| 0.5% Rutin | 1.076 ±0.029 b | 0.415 | 201.176 ±1.306 bc | 1.697 |
| 1.0% Rutin | 1.949 ±0.134 a | 0.751 | 228.056 ±1.214 ab | 1.923 |
| CK | 2.594 ±0.255 a | 1.000 | 118.577 ±0.443 d | 1.000 |

3 小结与讨论

AucaN PV、氟虫腈和多杀菌素是结构和作用机制都存在明显差异的 3 种药剂,但是斜纹夜蛾幼虫在取食了含有烟碱和芸香苷的食料后对这 3 种药剂的敏感性表现趋势却基本一致:取食烟碱后,试虫对药剂的敏感性均增强且与剂量呈正相关;低剂量的芸香苷对斜纹夜蛾的敏感性影响不大,但随剂量增加试虫的敏感性下降,这与董向丽等^[13]报道的结果类似。他们以单一剂量的芸香苷对棉铃虫进行多代培养, F1 代中处理组幼虫较对照组敏感性下降,并随着世代的延续渐趋稳定。烟碱与芸香苷同时存在于烟草中,且含量也与本试验中所用剂量相当^[8],研究发现它们对昆虫药剂敏感性的影响表现不一,因此有必要对其互作效应深入开展研究。

CarE 和 GSTs 是生物体内重要的解毒酶^[14,15]。一般认为, GSTs 是一个可诱导性的酶^[4]。与其他相关试验结果一样^[11],本试验中烟碱与芸香苷亦能诱导斜纹夜蛾 GSTs 的活性,且与浓度呈正相关,尤其是烟碱,其浓度变化对酶活性的影响更大。与之相反,两种次生物质对试虫 CarE 的活性均表现出显著的抑制效应,其中烟碱比芸香苷的抑制作用更强,其抑制效应与浓度成正相关。这与吴海军^[16]关于烟碱对烟蚜 *Myzus persicae* Sulzer CarE 作用的研究结果一致。但董钧锋等^[5]报道,烟碱、棉酚、番茄苷和辣椒素 4 种次生物质对棉铃虫和烟青虫的中肠 CarE 的活性无影响。

结合两种次生物质对斜纹夜蛾体内酶活性和药剂敏感性的影响来看, GSTs 活性变化最有规律且与药剂对斜纹夜蛾的 LC₅₀ 值变化方向一致,说明本试验中 GSTs 对药剂的分解作用对试虫药剂敏感性的影响并不十分明显。但各处理组试虫的药剂敏感性与 CarE 活性呈负相关,且 CarE 活性的变化幅度大(取食 1.0% 烟碱的试虫其 CarE 活性仅为对照的 1/57),可能是由于烟碱和芸香苷对 CarE 活性的抑制作用降低了试虫对药剂的代谢,使其敏感性增强;但由于芸香苷对 CarE 活性的抑制作用随剂量增加而减弱,高浓度芸香苷处理组斜纹夜蛾的 CarE 活性较高,因此随食物中芸香苷剂量的增加试虫对药剂的敏感性下降。

参考文献:

- Plant Protection (植物保护), 1993, 19(6): 39-41.
- [2] WU Zu-rong (武祖荣), CHANG Zhao-jin (常兆金), XIE Xin (谢沁). 烟草昆虫与烟碱的关系 [J]. Culture with Planting (耕作与栽培), 2001, (1): 58-59.
- [3] CHEN Hong-guo (陈洪国), YUAN Tian-wen (袁天文). 寄主植物对斜纹夜蛾药剂敏感性及中肠羧酸酯酶等的影响 [J]. Hubei Agric Sci (湖北农业科学) 2003, (6): 65-68.
- [4] GAO Xi-wu (高希武), DONG Xiang-li (董向丽), ZHAO Ying (赵颖). 槲皮素对棉铃虫体内一些解毒酶系和靶标酶的诱导作用 [J]. Chin J Pestic Sci (农药学报), 1999, 1(3): 56-60.
- [5] DONG Jun-feng (董钧锋), ZHANG Ji-hong (张继红), WANG Chen-zhu (王琛柱). 植物次生物质对烟青虫和棉铃虫食物利用及中肠解毒酶活性的影响 [J]. Acta Entomologica Sinica (昆虫学报), 2002, 45(3): 296-300.
- [6] WU Cheng-chun (吴承春), WANG Mo (王沫). 不同食料对甜菜夜蛾药剂敏感性及其解毒酶活性的影响 [J]. Chin J Pestic Sci (农药学报), 2003, 5(1): 56-60.
- [7] QIN Hou-guo (秦厚国), YE Zheng-xiang (叶正襄). 不同寄主植物与斜纹夜蛾喜食程度、生长发育及存活率的关系研究 [J]. Chin J Eco-Agric (中国生态农业学报), 2004, 12(2): 40-42.
- [8] DLAYTEN D, MARK T N. Tobacco Production, Chemistry and Technology [M]. London: Blackwell Science Ltd, 1995: 292-301.
- [9] GUAN Bao-bin (官宝斌), CHEN Qian-jin (陈乾锦), CHEN Jiahua (陈家骅), et al 斜纹夜蛾的生物学和生态学研究 [J]. Entomol J East China (华东昆虫学报), 1999, 8(1): 57-61.
- [10] HABIG W. Assays for Differentiation of Glutathione-S-transferases [J]. Method Enzymol, 1981, 77: 398-405.
- [11] SONG Chun-ma (宋春满), GAO Jia-he (高家合), DENG Jian-hua (邓建华), et al 不同品种烤烟对烟蚜羧酸酯酶和谷胱甘肽转移酶活性的影响 [J]. Entomol Knowl (昆虫知识), 2006, 43(3): 333-335.
- [12] BRADFORD M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein Dye Binding [J]. Anal Biochem, 1976, 72: 248-254.
- [13] DONG Xiang-li (董向丽), GAO Xi-wu (高希武), ZHENG Bing-zong (郑炳宗). 植物次生物质诱导作用对杀虫药剂毒力影响研究 [J]. Acta Entomologica Sinica (昆虫学报), 1998, 41 (Suppl): 111-116.
- [14] ZONG Jing (宗静), ZHANG Fan (张帆), SUN Guang-zhi (孙光芝), et al 繁殖寄主对赤眼蜂羧酸酯酶和乙酰胆碱酯酶的影响 [J]. Acta Entomologica Sinica (昆虫学报), 2000, 43 (Suppl): 70-76.
- [15] PASUPATHY S, REGUPATHY A, MANOHARAN T. Insecticide Induced Carboxylesterase Activity in *Helicoverpa (Heliothis) amigera* (Hübner) [J]. Resistant Pest Management, 1994, 6 (1): 19-20.
- [16] WU Hai-jun (吴海军), LI You-lian (李有莲). 不同浓度烟碱对桃蚜的生理生化影响 [J]. J Shanxi Agric Univ (山西农业大学学报), 2002, 22(4): 288-290.