

温度对几种害虫和寄生蜂乙酰胆碱酯酶对杀虫剂敏感性的影响

吴刚¹, 林勇文¹, 江树人^{2*}

(1. 福建农林大学 植物保护学院, 福建 福州 350002; 2 中国农业大学 理学院 应用化学系, 北京 100094)

摘要: 田间菜蛾绒茧蜂 *Cotesia plutellae*、颈双缘姬蜂 *Diadromus collaris* 和菜蚜茧蜂 *Diaeretiella rapae* 对敌敌畏的敏感度及 AChE 的 K_i 值远高于其寄主害虫小菜蛾 *P. xylostella* 和菜缢管蚜 *Lipaphis erysimi*。与对照(25℃)相比, 高反应温度(37℃)可显著增高敌敌畏对所测试的 5 种昆虫 AChE 的抑制率, 而低反应温度(5℃)对 5 种昆虫 AChE 的抑制率影响不显著。研究结果还表明, 高温对 3 种寄生蜂 AChE 的影响明显高于对 2 种寄主害虫 AChE 的影响。

关键词: 寄生蜂; 寄主害虫; 敌敌畏; 乙酰胆碱酯酶; 反应温度

中图分类号: Q 965.9 文献标识码: A 文章编号: 1008-7303(2003)04-0085-03

乙酰胆碱酯酶(AChE)是有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂最重要的靶标, AChE 的双分子速率常数 K_i 值可以反映有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂对 AChE 活性抑制程度的大小^[1,2]。由于田间防治是在气温不断变化的条件下进行的, 因此需要考虑温度的变化对杀虫剂对 AChE 抑制作用的影响。许多有机磷杀虫剂对昆虫的毒性与测试温度呈正相关关系^[3], 吴刚等证实高温可显著增加敌敌畏对小菜蛾 AChE 的抑制作用^[4], 但有关反应温度对寄生蜂和害虫 AChE 影响方面的研究目前尚未见报道。作者研究了田间菜蛾绒茧蜂 *Cotesia plutellae*、颈双缘姬蜂 *Diadromus collaris*、菜蚜茧蜂 *Diaeretiella rapae*、小菜蛾 *P. xylostella* 和菜缢管蚜 *Lipaphis erysimi* 对敌敌畏的敏感度差异及反应温度对 5 种昆虫 AChE 对敌敌畏敏感性的影响, 现将结果简报如下。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫与毒力测定

从福州建新蔬菜基地田间采集的小菜蛾和菜缢管蚜用无农药甘蓝幼苗在 25℃ 下、L:D = 16:8 条件下饲养, 取 F₁ 代 3 龄小菜蛾幼虫和无翅成蚜用于试验。在同一菜地采集被寄生的小菜蛾幼虫和蛹、菜缢管蚜僵蚜, 置于室内 25℃ 下、L:D = 16:8 条件下饲养, 取刚羽化的菜蛾绒茧蜂(小菜蛾幼虫寄生蜂)、颈双缘姬蜂(小菜蛾蛹寄生蜂)和菜蚜茧蜂(菜缢管蚜若虫寄生蜂)用于试验。

在 25℃ 下、L:D = 16:8 条件下进行杀虫剂毒力测定。两种害虫的生物测定采用叶片浸渍饲喂法^[4], 24 h (对蚜虫) 或 48 h (对小菜蛾) 后检查死虫数, 计算 LC₅₀。寄生蜂采用药膜法^[5], 24 h (对菜蚜茧蜂) 或 48 h (对菜蛾绒茧蜂和颈双缘姬蜂) 后检查死虫数, 计算 LC₅₀。

1.2 供试药剂

92.5% 敌敌畏(dichlorvos)原油(由湖北沙隆达股份有限公司提供)。还原型谷胱甘肽

□作者简介: 吴刚(1958-), 男, 福建人, 博士, 副教授, 主要从事昆虫毒理学和抗药性研究

基金项目: 福建省自然科学基金(B0010012); 福建省科技厅科技项目(2001Z146)资助

(GSH) 及碘化硫代乙酰胆碱(A TCh) (均为 Sigma 产品); 5, 5-二硫-双(2-硝基苯甲酸)(DTNB) (Carl Roth 产品); 其他药品或试剂为国产分析纯或化学纯。

1.3 AChE 制备及活性测定

将田间小菜蛾 F₁ 代 4 龄幼虫、无翅成蚜和寄生蜂成虫于 0.066 mol/L、pH 8.0 的磷酸缓冲液中冰浴匀浆, 于 0~4 000 r/m in 下离心, 取上清液作酶源。参照吴刚等的方法测定 AChE 活性^[4]。

1.4 不同反应温度下抗性小菜蛾 AChE 的 K_i 值测定

取人工气候箱中于 25℃ 下饲养的害虫和寄生蜂, 根据 1.3 方法制备酶液。反应前, 酶液分别在 37℃、25℃ 和 5℃ 下平衡 1 min, 然后将 1.8 mL 酶液与 0.2 mL 敌敌畏的混合液分别在 37℃、25℃ 和 5℃ 下保温, 在一定的时间间隔内取一定量的保温混合液加入到 2.0 mL 底物 (A TCh) 和 DTNB 的混合液中, 分别测定 37℃、25℃ 和 5℃ 反应温度下的剩余酶活力。采用缓冲液代替酶混合液以消除自动水解, 采用缓冲液代替杀虫剂以测定无抑制酶全活, 按照 Aldridge^[6] 的方法计算 3 种反应温度下的 K_i 值。实验中使用了 5 个不同浓度的敌敌畏药液测定每个 K_i 值。

2 结果与讨论

供试的 3 种寄生蜂对敌敌畏的敏感度远高于其寄主害虫小菜蛾和菜缢管蚜(见表 1), 与之相对应的是, 3 种寄生蜂 AChE 的 K_i 值也远高于其寄主害虫(见表 2), AChE 对敌敌畏敏感性(K_i 值)的差异应是导致 3 种寄生蜂和两种寄主害虫对敌敌畏 LC₅₀ 值差异的重要原因。与

Table 1 Selectivity of insecticides on the populations of two pest insects and their three parasitoids in Fuzhou, China

Insects	Weight of per adult or larva \pm SE /mg	dichlorvos	
		LC ₅₀ (95% FL) /mg · L ⁻¹	Slope \pm SE
<i>C. plutellae</i> (adult)	0.66 \pm 0.05	0.68 (0.57~0.78)	4.24 \pm 0.57
<i>D. collaris</i> (adult)	1.41 \pm 0.05	0.27 (0.23~0.32)	4.06 \pm 0.39
<i>D. rapae</i> (adult)	0.15 \pm 0.01	0.06 (0.05~0.07)	4.11 \pm 0.35
<i>P. xylostella</i> (3 instar larva)	1.83 \pm 0.11	1.270 (941~1.713)	1.32 \pm 0.27
<i>L. erysimi</i> (aptera adult)	1.12 \pm 0.06	650 (479~868)	1.72 \pm 0.30

Table 2 Effects of incubating temperature of AChE and dichlorvos on K_i values of AChE in the field populations of two pest insects and their three parasitoids in Fuzhou, China

Insects	K _i of AChE at different incubating temperature/mol · L ⁻¹ · m in ⁻¹					
	37	Ratio *	25	Ratio	5	Ratio
<i>C. plutellae</i>	(5.83 \pm 0.30) \times 10 ⁴ a **	1.94	(3.01 \pm 0.26) \times 10 ⁴ b	1.0	(2.77 \pm 0.07) \times 10 ⁴ b	0.92
<i>D. collaris</i>	(12.4 \pm 0.50) \times 10 ⁴ a	2.40	(5.14 \pm 0.42) \times 10 ⁴ b	1.0	(4.44 \pm 0.36) \times 10 ⁴ b	0.86
<i>D. rapae</i>	(4.38 \pm 0.13) \times 10 ⁴ a	1.95	(2.25 \pm 0.09) \times 10 ⁴ b	1.0	(2.06 \pm 0.18) \times 10 ⁴ b	0.92
<i>P. xylostella</i>	(5.13 \pm 0.16) \times 10 ³ a	1.51	(3.40 \pm 0.08) \times 10 ³ b	1.0	(2.71 \pm 0.19) \times 10 ³ b	0.80
<i>L. erysimi</i>	(3.23 \pm 0.12) \times 10 ³ a	1.58	(2.04 \pm 0.10) \times 10 ³ b	1.0	(1.78 \pm 0.08) \times 10 ³ b	0.87

*: Ratio = K_i values of AChE at 37℃ or 5℃ / K_i values of AChE at 25℃ for each species of insect

**: Means in the same column followed by different letters differ significantly for each species of insect ($P < 0.05$)。

对照(25℃)相比,高反应温度(37℃)可显著增高敌敌畏对5种昆虫AChE的抑制率,而低反应温度(5℃)可使之降低,但差异不显著。上述结果可解释许多有机磷杀虫剂对昆虫的毒性与测试温度呈正相关关系的部分原因。高温对敌敌畏对3种寄生蜂AChE抑制率的增加幅度明显高于对两种寄主害虫AChE的影响(表2)。由于一年间田间的气温变化很大,根据本文的结果,在相同的高温条件下,敌敌畏对寄生蜂AChE的抑制作用大于对害虫的,因此高温条件下用药对寄生蜂的生存是不利的。昆虫对有机磷的抗性机制通常与AChE不敏感性有关,这已成为人们的共识,本研究结果证实,反应温度会影响抑制剂对AChE的抑制作用。但环境温度作为一种选择压力对昆虫抗性机制究竟有何影响尚需作进一步深入的研究。

参考文献:

- [1] Taylor P, Radic Z. The cholinesterases: from genes to proteins [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1994, 34: 281-320
- [2] Fournier D, Mutter A. Mini review: modification of acetylcholinesterase as a mechanism of resistance to insecticides [J]. *Camp Biochem Physiol*, 1994, 108: 19-31.
- [3] Johnson D L. Influence of temperature on toxicity of two pyrethroids to grasshoppers (Orthoptera: Acrididae) [J]. *J Econ Entomol*, 1990, 83(2): 366-373
- [4] 吴刚,江树人.田间小菜蛾抗药性监测及毒理机制研究[J].植物保护学报,2002,29(4):351-355
- [5] 吴刚,江树人.常用杀虫剂对菜蛾绒茧蜂的影响及毒理机制[J].农药学学报,2002,4(3):19-23
- [6] Aldridge W N. Some properties of specific cholinesterase with particular reference to mechanism of inhibition by diethyl *p*-nitrophenyl thiophosphate (E605) and analogues [J]. *Biochem J*, 1950, 46: 451-460

Effects of Incubating Temperature on Inhibitions of Acetylcholinesterase Activity by Dichlorvos in Three Parasitoids and Their Host Insects

WU Gang¹, LIN Yong-wen¹, JIANG Shu-ren^{2*}

(1. Department of Plant Protection, Fujian Agriculture and Forestry University,
Fuzhou 350002, China;

2. Department of Applied Chemistry, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract: The susceptibilities to dichlorvos and the bimolecular rate constants (K_i) values of acetylcholinesterase (AChE) to dichlorvos in three parasitoids, *Cotesia plutellae*, *Diadromus collaris*, *D. iacretiella rapae*, were far higher than those in their host insects *P. xylostella* and *L. erysimi*. Comparing with those incubated at 25℃, significant increase of K_i values of AChE to dichlorvos were found in five species of insects when AChE and dichlorvos were incubated at high temperature (37℃), but no obvious changes of K_i values of AChE incubated at 5℃. Higher inhibitions of AChE activity were found in *C. plutellae*, *D. collaris* and *D. rapae* than those in *P. xylostella*, *L. erysimi* when AChE and dichlorvos were incubated at 37℃, and these facts would be not available to parasitoids in their evolutions of insecticide resistance in the field.

Key words: parasitoids; host insects; dichlorvos; acetylcholinesterase; incubating temperature