

杀菌剂丙环唑对斜纹夜蛾的毒性

赵海珍, 张志祥, 廖美德, 张竞立, 徐汉虹*

(华南农业大学昆虫毒理学研究室, 农药与化学生物学教育部重点实验室, 广州 510642)

摘要: 在研究比较了 11 种农药对斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 细胞(简称 SL 细胞)的毒杀活性基础上, 选择毒杀活性最高的杀菌剂丙环唑, 对其毒理学机理进行进一步研究。结果表明, 丙环唑的细胞毒力最高, 在 100 $\mu\text{g/mL}$ 浓度下处理后 48 h, SL 细胞的死亡率为 98.08%。处理后 36 h, 丙环唑对 SL 细胞的 LC_{50} 值为 20.31 $\mu\text{g/mL}$ 。丙环唑能明显降低 SL 细胞的蛋白质含量。以 0.5 $\mu\text{g/头}$ 的丙环唑注射斜纹夜蛾 4 龄幼虫, 处理后 72 h, 试虫血淋巴总含量及血细胞数分别下降了 26.80% 和 25.26%; 在 1.0 $\mu\text{g/头}$ 的剂量下, 则分别下降了 37.67% 和 36.32%。以 0.5 $\mu\text{g/头}$ 和 1.0 $\mu\text{g/头}$ 的丙环唑注射处理后, 斜纹夜蛾幼虫体重显著降低。此外, 丙环唑能降低斜纹夜蛾幼虫血淋巴含糖量及血淋巴蛋白质含量。在注射处理后 96 h 和 120 h, 丙环唑对斜纹夜蛾 4 龄幼虫的 LD_{50} 值分别为 0.59 $\mu\text{g/头}$ 和 0.45 $\mu\text{g/头}$ 。丙环唑对 SL 细胞和斜纹夜蛾幼虫均具有较好的毒杀活性, 显示出丙环唑类似物控制害虫的可能性。

关键词: 斜纹夜蛾; 丙环唑; 毒理学; 细胞毒力; 毒性

中图分类号: Q965.9 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2006)02-0265-06

Insecticidal activities of propiconazole against *Spodoptera litura* (Lepidoptera : Noctuidae)

ZHAO Hai-Zhen, ZHANG Zhi-Xiang, LIAO Mei-De, ZHANG Jing-Li, XU Han-Hong* (Laboratory of Insect Toxicology, Key Laboratory of Pesticide and Chemical Biology, Ministry of Education, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: On the ground of studying the cytotoxicity of 11 kinds of pesticides, propiconazole, which had the highest toxicity against *Spodoptera litura* (SL) cells, was chosen to further investigate its toxicology. The results showed that the mortality of SL cells treatment by propiconazole at concentration of 100 $\mu\text{g/mL}$ was 98.08%. The LC_{50} value of propiconazole against SL cells was 20.31 $\mu\text{g/mL}$ 36 h after treatment. Propiconazole reduced the protein content of SL cells obviously. When injected with propiconazole at concentration of 0.5 $\mu\text{g/larva}$ for 72 h, the blood content and the number of corpuscles of the 4th-instar larvae decreased by 26.80% and 25.26% respectively; while at concentration of 1.0 $\mu\text{g/larva}$, they decreased by 37.67% and 36.32% respectively. Under the both concentrations, the weight of larvae decreased notably. In addition, propiconazole reduced the total sugar and protein content in hemolymph of *S. litura* larvae. After treatment for 96 h and 120 h, the LD_{50} values of propiconazole against 4th-instar larvae of *S. litura* were 0.59 $\mu\text{g/larva}$ and 0.45 $\mu\text{g/larva}$ respectively. The high toxicity of propiconazole against cells and larvae of *S. litura* implied the possibility for propiconazole analog in controlling insect pests.

Key words: *Spodoptera litura*; propiconazole; toxicology; cytotoxicity; toxicity

硫磺与石硫合剂作为农药已有很长的历史, 是无机杀菌剂中的重要品种, 用于防治病害如锈病、白粉病及某些种类的害虫如介壳虫、螨等。诸如此类杀菌剂防虫的报道已有不少。噻菌灵可作驱虫剂,

福美双对甲虫有忌避作用, 代森锌是用于叶部的保护性杀菌剂, 同样对桔锈螨也有效。稻瘟净能防治黑尾叶蝉, 三苯基醋酸锡对某些害虫还有一定的忌避和拒食作用(张敏恒, 1999)。

基金项目: 广东省自然科学基金重点项目(036837)

作者简介: 赵海珍, 女, 1979 年生, 甘肃人, 硕士研究生, E-mail: haizhz@163.com

* 通讯作者 Author for correspondence Tel.: 020-85285127; E-mail: hlxu@scau.edu.cn

收稿日期 Received: 2005-10-20; 接受日期 Accepted: 2006-01-15

丙环唑是甾醇甲基化抑制剂,主要干扰真菌细胞膜上类固醇生物合成及抑制麦角甾醇的形成。甾醇广泛存在于生物体内,如病原微生物细胞膜及大多数动物细胞膜上均含有各种甾醇类物质。本研究室在对病原微生物及昆虫细胞的长期研究中注意到,昆虫细胞与病原微生物细胞在某些结构与组成上可能有相似之处,许多能破坏病原物结构与功能的杀菌剂有可能对昆虫细胞也产生影响。在这种思维的指导下,作者研究了一些杀菌剂对斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 细胞(简称 SL 细胞)及幼虫的毒杀活性。

丙环唑是农业上常用的内吸、广谱、毒性低的三唑类杀菌剂,既是水果防腐保鲜剂,又是禾谷类作物和蔬菜的杀菌剂,而且对小麦生长具有一定的调节作用(Lewis *et al.*, 1996)。我们研究了丙环唑对斜纹夜蛾细胞及幼虫的生物活性,旨在探讨将其衍生物用于害虫防治的可能性。

1 材料与方法

1.1 供试生物

SL 细胞系:SL 细胞为斜纹夜蛾的卵细胞,由华南农业大学昆虫毒理研究室室内传代培养。培养基为 Grace's Insect Cell Culture Medium,添加 8% 的新生牛血清,27.5℃ 恒温培养。

斜纹夜蛾:从华南农业大学农场芋头叶上采取卵块,孵化后,低龄幼虫用芋头叶饲养,高龄幼虫用木薯叶饲养。以 4 龄幼虫为供试虫。

1.2 供试药剂及仪器

95% 丙环唑原油、97% 三唑醇原粉、95% 三唑酮原粉,江苏张家港市七洲农药化工有限公司生产;98% 鱼藤酮晶体,美国 Sigma 公司生产;99% 烟碱,美国 Merck-Schuchardt 公司生产;95% 多菌灵原粉,湖北沙隆达股份有限公司江陵农药厂生产;95% 噻菌灵原粉,江苏通州正大农药厂生产;95% 异菌脲,江苏快达农化股份有限公司生产;95% 乙霉威,山东烟台鑫润精细化工有限公司生产;96% 恶霉灵,吉林延边西爱斯开化学有限公司生产;95% 甲基硫菌灵原粉,江苏响水县利农农药有限责任公司生产。

7230G 型可见分光光度计,上海长方光学仪器有限公司生产。

1.3 农药对 SL 细胞的毒力测定方法

于 96 孔培养板中加 100 μL 处于对数生长期的 SL 细胞(密度约为 1×10^4 个/mL),待细胞贴壁后加

药处理,对照加含有 2% 丙酮的细胞培养液,于处理后 48 h 用 MTT 法(Mosmann, 1983; Stipanovic *et al.*, 1989; 周青春等, 1997; 张志祥等, 2000)测定对 SL 细胞的毒力。

1.4 丙环唑对 SL 细胞蛋白质含量的测定

参照张卓然(2004)及汤方等(2005)考马斯亮蓝 G250 方法。采用 6 mL 的反应体系。对照加 1 mL 的生理盐水,5 mL 考马斯亮蓝。处理加 200 μL 细胞破碎液,800 μL 生理盐水,考马斯亮蓝 5 mL。以牛血清白蛋白作标准曲线。于 96 孔培养板中加 100 μL 处于对数生长期的 SL 细胞(密度约为 1×10^4 个/mL),待贴壁后用各供试浓度处理,以含 2% 丙酮的培养液为对照,作用 24 h 后,将细胞破碎使蛋白质释放,测定光密度值 $\text{OD}_{595\text{nm}}$,计算出蛋白质含量。

1.5 丙环唑对斜纹夜蛾幼虫的生物活性测定

用丙酮 + 水(1:1, V/V)将药剂稀释到供试浓度,用微量注射器在斜纹夜蛾 4 龄幼虫的第 2 对和第 3 对腹足之间腹侧注射药液,对照注射等量丙酮 + 水(1:1)混合物。注射针头朝向虫头,从试虫腹部侧面注入 1 μL 药液,注射完毕后,将试虫放入垫有保湿滤纸的培养皿中,并放入新鲜的木薯叶片,将培养皿置于养虫室($25 \pm 1^\circ\text{C}$)中。每个浓度 3 个重复,每个重复 10 头虫子。在电子天平上分别于处理前和处理后 96 h、120 h 称量虫重,并调查试虫死亡情况。

1.6 丙环唑对斜纹夜蛾幼虫血淋巴总含量及血细胞量的影响

注射给药法同上,于处理 72 h 后剪破幼虫腹足取幼虫血淋巴,用血球计数板对血细胞进行计数(邓日强和利翠英, 1995);采用排空法(李孟楼等, 2003)测定幼虫血淋巴总含量,将剪破腹足的幼虫放在滤纸上任其爬行,5 min 后更换新的滤纸,半小时后称虫重。每处理取试虫 30 头。

1.7 丙环唑对斜纹夜蛾幼虫血淋巴蛋白质含量的影响

注射给药法同上,于处理 48 h 后取幼虫血淋巴,每处理取试虫 30 头,每试虫取 15 μL 。考马斯亮蓝法测定血淋巴蛋白质含量(周婷等, 2004; 张卓然, 2004)。采用 6 mL 的反应体系。以牛血清白蛋白作标准曲线。经处理后测定 $\text{OD}_{595\text{nm}}$ 值,计算出试虫血淋巴的蛋白质含量。

1.8 丙环唑对斜纹夜蛾幼虫血淋巴总糖含量的影响

注射给药法同上,于处理 48 h 后取幼虫血淋

巴,每处理取试虫 30 头,每试虫取 15 μL 。葱酮法测定试虫血淋巴总糖含量(胡美英等,2002;件均祥等,2004)。分别取 0.04、0.08、0.12、0.20、0.40、0.60、0.80 mL 的葡萄糖标准液,用蒸馏水定容至 1 mL,加入 0.3 mL 葱酮试剂和 3 mL 浓硫酸,摇匀,反应 10 min 后测定 $\text{OD}_{620\text{nm}}$ 值,求出标准曲线。

取血淋巴混合液 0.1 mL,加 6 mol/L HCl 2.90 mL,沸水浴加热 10 min,冷却后用 NaOH 调至近中性,再用双蒸水定容至 10 mL,用滤纸过滤,取滤液 0.1 mL,双蒸水定容至 1 mL,按标准曲线制作方法测定 $\text{OD}_{620\text{nm}}$ 值,求出葡萄糖含量(每毫升血淋巴中葡萄糖的毫克数)。

1.9 数据处理

毒力回归、方差分析均采用 SAS 数据软件分析,多重比较是在 0.05 水平上用邓肯氏新复极差法

(Duncan's Multiple Range Test,DMRT)进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 供试药剂对斜纹夜蛾 SL 细胞的毒杀活性

11 种药剂对 SL 细胞的毒杀活性见表 1。从表 1 可以看出,杀菌剂均对 SL 细胞具有一定的毒杀活性,其中三唑类杀菌剂的细胞毒力较高,如三唑醇、三唑酮、丙环唑在 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 剂量下处理后 48 h,SL 细胞死亡率分别为 51.56%、49.92%和 98.08%。鱼藤酮是典型的作用于线粒体电子传递链的昆虫细胞毒剂,但是对 SL 细胞的毒力明显低于丙环唑。100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的烟碱处理后 48 h,SL 细胞死亡率为 - 59.95%,这表明烟碱有促进细胞生长的作用。

表 1 11 种农药对斜纹夜蛾 SL 细胞的毒杀活性
Table 1 Cytotoxicity of 11 kinds of pesticides against *Spodoptera litura* cells

处理 Treatment	浓度($\mu\text{g}/\text{mL}$) Concentration	调零后 $\text{OD}_{570\text{nm}}$ 平均值 Average of $\text{OD}_{570\text{nm}}$	存活率(%) Survival rate	死亡率(%) Mortality
丙环唑 Propiconazole	100	0.1118 $\pm$ 0.0004 h	1.920 $\pm$ 0.06 g	98.08 $\pm$ 0.06 a
烟碱 Nicotine	100	0.9790 $\pm$ 0.0063 a	159.95 $\pm$ 1.04 a	- 59.95 $\pm$ 1.04 g
三唑醇 Triadimenol	100	0.2965 $\pm$ 0.0084 g	48.44 $\pm$ 1.37 f	51.56 $\pm$ 1.37 b
三唑酮 Triadimefon	100	0.3065 $\pm$ 0.0062 g	50.08 $\pm$ 1.01 f	49.92 $\pm$ 1.01 b
多菌灵 Carbendazim	100	0.4750 $\pm$ 0.0079 e	77.60 $\pm$ 1.29 d	22.40 $\pm$ 1.29 d
噻菌灵 Thiabendazole	100	0.4930 $\pm$ 0.0090 de	80.55 $\pm$ 1.47 cd	19.45 $\pm$ 1.47 de
异菌脲 Iprodione	100	0.4909 $\pm$ 0.0097 de	80.19 $\pm$ 1.58 cd	19.81 $\pm$ 1.58 de
乙霉威 Diethofencarb	100	0.5606 $\pm$ 0.0089 c	91.59 $\pm$ 1.46 b	8.41 $\pm$ 1.46 f
恶霉灵 Hymexazol	100	0.5021 $\pm$ 0.0051 d	82.03 $\pm$ 0.83 c	17.97 $\pm$ 0.83 e
甲基硫菌灵 Thiophanate-methyl	100	0.5498 $\pm$ 0.0069 c	89.83 $\pm$ 1.13 b	10.17 $\pm$ 1.13 f
鱼藤酮 Rotenone	100	0.3628 $\pm$ 0.0081 f	59.27 $\pm$ 1.32 e	40.73 $\pm$ 1.32 c
对照 CK	—	0.6121 $\pm$ 0.0052 b	—	—

注：调查时间为处理后 48 h。表中同列数据(平均值 $\pm$ SE)后字母相同者,表示在 5% 水平上差异不显著(DMRT);下表同。
Note: Data obtained after treatment for 48 h. The data (mean $\pm$ SE) within a column followed by the same letter are not significantly different at 5% level (DMRT, $P > 0.05$); The same for the following tables.

2.2 丙环唑对斜纹夜蛾 SL 细胞的毒杀活性

丙环唑对 SL 细胞毒杀活性见表 2。从表 2 可以看出,处理后 36 h,丙环唑和鱼藤酮对 SL 细胞的

LC_{50} 值分别为 20.31 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、174.09 $\mu\text{g}/\text{mL}$,可见丙环唑的细胞毒力明显高于鱼藤酮。

表 2 丙环唑对斜纹夜蛾 SL 细胞的毒杀活性
Table 2 Toxicity of propiconazole against *Spodoptera litura* cells

处理 Treatment	处理时间 Time (h)	毒力回归方程 Toxicity regress equation	LC_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	LC_{50} 95% 置信区间 95% limit distance	相关系数 Coefficient correlation
丙环唑 Propiconazole	36	$y = 2.9617 + 1.5588x$	20.31	17.04 ~ 24.20	0.9866
鱼藤酮 Rotenone	36	$y = 1.4970 + 1.5633x$	174.09	106.61 ~ 284.30	0.9947

2.3 丙环唑对斜纹夜蛾 SL 细胞蛋白质含量的影响
SL 细胞蛋白质含量测定结果见表 3。从表 3 可以看出,丙环唑能明显影响 SL 细胞的蛋白质含量。

在 80 $\mu\text{g/mL}$ 、40 $\mu\text{g/mL}$ 、20 $\mu\text{g/mL}$ 、10 $\mu\text{g/mL}$ 的浓度下处理后 24 h,各处理蛋白含量与对照相比分别下降了 53.27%、37.99%、25.89% 和 19.31%。

表 3 丙环唑对斜纹夜蛾 SL 细胞蛋白质含量的影响

Table 3 Effect of propiconazole on the protein content of <i>Spodoptera litura</i> cells					
处理	浓度($\mu\text{g/mL}$)	光密度值	实测值($\mu\text{g/mL}$)	蛋白含量($\mu\text{g}/\text{hole}$)	降低率(%)
Treatment	Concentration	OD _{595nm}	Tested concentration of protein	Content of protein	Reduced rate
对照 CK	—	0.137 $\pm$ 0.0035	21.42 $\pm$ 0.6407	10.71 $\pm$ 0.32 a	—
丙环唑 Propiconazole	80	0.074 $\pm$ 0.0006	10.01 $\pm$ 0.1144	5.00 $\pm$ 0.06 e	53.27
	40	0.092 $\pm$ 0.0021	13.28 $\pm$ 0.3884	6.64 $\pm$ 0.19 d	37.99
	20	0.106 $\pm$ 0.0016	15.88 $\pm$ 0.2875	7.94 $\pm$ 0.14 c	25.89
	10	0.114 $\pm$ 0.0018	17.28 $\pm$ 0.3267	8.64 $\pm$ 0.16 b	19.31

注:调查时间为处理后 24 h

Note: Treated for 24 h before test.

2.4 丙环唑注射处理对斜纹夜蛾幼虫血淋巴含量及血细胞数量的影响
丙环唑对活体昆虫血细胞量的影响见表 4。从表 4 可以看出,在实验剂量下,丙环唑对斜纹夜蛾幼虫血淋巴含量及血细胞数量有明显影响,在

0.5 $\mu\text{g}/\text{头}$ 剂量下注射处理后 72 h,与对照相比,分别下降了 26.80% 和 25.26%;1.0 $\mu\text{g}/\text{头}$ 剂量处理后,则分别下降了 37.67% 和 36.32%。这表明丙环唑能减少幼虫血淋巴总量并能使幼虫血细胞数量减少。

表 4 丙环唑注射处理对斜纹夜蛾 4 龄幼虫血淋巴含量及血细胞数量的影响

Table 4 Effect of propiconazole on the blood content and blood corpuscles of the 4th-instar larvae of <i>Spodoptera litura</i>					
处理	剂量	处理后 72 h Treated for 72 h			
		平均血淋巴含量	血淋巴含量降低率(%)	血细胞数量	血细胞数降低率(%)
		Average blood content	Reduced rate of	Number of corpuscles	Reduced rate of corpuscles
Treatment	Dose	(%) $\pm$ SE	blood content	($\times 10^5/\text{mL}$) $\pm$ SE	
对照 CK	—	50.12 $\pm$ 0.01 a	—	190 $\pm$ 10 a	—
丙环唑	0.5	36.69 $\pm$ 0.04 b	26.80	142 $\pm$ 10 b	25.26
Propiconazole	1.0	31.24 $\pm$ 0.03 c	37.67	121 $\pm$ 7 c	36.32

2.5 丙环唑注射处理对斜纹夜蛾幼虫血淋巴蛋白质含量及含糖量的影响
丙环唑对活体昆虫血淋巴蛋白质含量及含糖量的影响见表 5。从表 5 可以看出,丙环唑对斜纹夜

蛾幼虫血淋巴蛋白质含量及含糖量有较明显的影响。在 0.5 $\mu\text{g}/\text{头}$ 剂量下处理后 48 h,分别下降了 19.79% 和 21.59%;在 1.0 $\mu\text{g}/\text{头}$ 剂量下,则分别下降了 30.91% 和 42.36%。

表 5 丙环唑对斜纹夜蛾幼虫血淋巴含糖量及蛋白质含量的影响

Table 5 Effect of propiconazole on the content of total sugar and protein in haemolymph of the 4th-instar larvae of *Spodoptera litura*

处理	剂量	血淋巴蛋白质 Proteins in haemolymph			血淋巴含糖量 Total sugar in haemolymph		
		蛋白含量		降低率(%)	含糖量		降低率(%)
		OD _{595nm}	Content of protein		OD _{620nm}	Content of total sugar	
Treatment	Dose		(mg/mL)	Reduced rate		(mg/mL)	Reduced rate
对照 CK	—	0.150 $\pm$ 0.0042	75.58 $\pm$ 2.57 a	—	0.10 $\pm$ 0.0011	9.17 $\pm$ 0.11 a	—
丙环唑	0.5	0.125 $\pm$ 0.0041	60.62 $\pm$ 2.56 b	19.79	0.08 $\pm$ 0.0010	7.19 $\pm$ 0.10 b	21.59
Propiconazole	1.0	0.112 $\pm$ 0.0052	52.22 $\pm$ 3.18 c	30.91	0.06 $\pm$ 0.0014	5.29 $\pm$ 0.14 c	42.36

注:调查时间为处理后 48 h。

Note: Treated for 48 h before test.

2.6 丙环唑注射处理对斜纹夜蛾幼虫的毒杀活性
丙环唑对斜纹夜蛾幼虫的毒杀活性见表 6。从表 6 中可以看出,注射处理后,丙环唑对斜纹夜蛾 4

龄幼虫具有较好的毒杀活性,处理后 96 h 和 120 h,丙环唑对斜纹夜蛾 4 龄幼虫的 LD₅₀ 值分别为 0.59 $\mu\text{g}/\text{头}$ 和 0.45 $\mu\text{g}/\text{头}$ 。

表 6 丙环唑注射处理对斜纹夜蛾 4 龄幼虫的毒杀活性

Table 6 Toxicity of propiconazole injected into the 4th-instar larvae of <i>Spodoptera litura</i> larvae				
处理时间(h)	毒力回归方程	LD ₅₀ (μ g/头)	LD ₅₀ 95%置信区间	相关系数
Time	Toxicity regress equation	(μ g/larva)	95% limit distance	Coefficient correlation
96	$y = 5.2602 + 1.1443x$	0.59	0.29 ~ 1.22	0.9964
120	$y = 5.3604 + 1.0296x$	0.45	0.18 ~ 1.13	0.9952

2.7 丙环唑注射处理对斜纹夜蛾幼虫体重的影响

丙环唑对斜纹夜蛾体重的影响见表 7。从表 7 可以看出,在实验剂量下,丙环唑能显著降低斜纹夜蛾幼虫体重,对其生长发育有明显的抑制作用,在

0.5 μ g/头剂量下注射处理后 96 h、120 h,体重增长抑制率分别为 53.51% 和 70.09%;1.0 μ g/头剂量处理后,体重增长抑制率则分别为 65.75% 和 72.28%。随着时间延长和剂量升高,体重增长抑制率提高。

表 7 丙环唑注射处理对斜纹夜蛾 4 龄幼虫体重的影响

Table 7 Effect of propiconazole injected into the 4th-instar larvae on the weight of <i>Spodoptera litura</i>					
处理 Treatment	剂量 Dose (μ g/larva)	处理后 96 h Treated for 96 h		处理后 120 h Treated for 120 h	
		体重增长率(%)	体重增长抑制率(%)	体重增长率(%)	体重增长抑制率(%)
		Weight increase rate	Reduced rate of weight increase rate	Weight increase rate	Reduced rate of weight increase rate
对照 CK	—	238.32 $\pm$ 47.30 a	—	275.42 $\pm$ 65.77 a	—
丙环唑	0.5	110.79 $\pm$ 49.78 b	53.51	100.67 $\pm$ 68.34 b	70.09
Propiconazole	1.0	81.63 $\pm$ 48.28 c	65.75	93.32 $\pm$ 67.62 c	72.28

3 讨论

丙环唑是一种应用广泛的商品化低毒杀菌剂,近年来国内有许多厂家投产原药,其国内使用有加速发展的趋势。丙环唑是甾醇甲基化抑制剂,主要干扰真菌类固醇生物合成、抑制麦角甾醇的形成,在大多数真菌中,如果缺乏组成细胞膜的麦角甾醇将会导致细胞膜不可修复的损伤,从而使真菌死亡(Gerald *et al.*, 2002)。作者研究发现,浸叶喂食丙环唑对斜纹夜蛾幼虫没有毒杀活性,但是注射处理时有优良的毒杀活性和生长发育抑制作用,这可能是由于丙环唑对斜纹夜蛾幼虫中肠穿透性较差的原因所致。

血淋巴是昆虫生理活动所必需的一切物质及代谢产物汇合的场所。它具有极复杂的组分及特性,担负着多种生理功能。血淋巴中含有血浆、血细胞、蛋白质以及各种糖类等物质,它们都是昆虫重要的生理指标。昆虫血淋巴中含有多种蛋白质,这些蛋白质不仅与组织形成的物质代谢有关,而且与虫体生长发育的激素调控以及产生抗药性和免疫机制等都有密切的关系(张国洲等 2000)。血糖主要被作为能源化合物利用,还可以用来合成表皮几丁质以及各种粘多糖和糖蛋白。血浆和血细胞共同承担输送营养并移除代谢产物以及其他许多防卫和代谢的

重要功能(牟吉元等,1996)。一旦这些重要的生理指标受到抑制后,昆虫的生长发育、免疫力、代谢功能、解毒能力等就会受到破坏,必然会影响到昆虫的代谢调节。从本实验结果来看,丙环唑注射处理后减少了幼虫血淋巴总含量、血细胞数量、血淋巴蛋白质含量及总糖量,直接影响到虫体生长发育,抑制其体重增长,最终使虫体死亡。这说明通过影响昆虫的生理指标而达到防虫的目的是可行的。

采用 MTT 法,作为离体毒力测定的终点指标,用培养的细胞来检测药物或有机合成农药对细胞的敏感性具有快速、高效和灵敏的优点,同时它可在一块 96 孔板上一次操作多个样品和浓度,重复性和准确性均很好。农药的离体毒力测试与活体测试相比,它可在严格控制的实验条件下,简化影响因素,准确地探讨独立因子所起的作用,它更直接地从细胞水平上反映了毒力的差异。本实验所得结果与前人用活体实验所得结果并不完全一致。鱼藤酮是典型的昆虫细胞毒剂,但是对 SL 细胞的毒力明显低于丙环唑;100 μ g/mL 烟碱处理后 48 h,SL 细胞死亡率为 -59.95%,这两种药的细胞毒力都与其杀虫活性背道而驰,这可能与它们的作用机理有关,鱼藤酮的杀虫机制是抑制神经和肌肉组织中细胞呼吸,烟碱对害虫的毒杀机理是麻痹神经;本实验中丙环唑对 SL 离体细胞有很高的细胞毒力,但在浸叶喂食时对活体昆虫没有生物活性,只有在注射处理后才对斜

纹夜蛾 4 龄幼虫具有生物活性。从这几点来看,似乎离体生测与传统的活体生测没有必然的联系,但从影响昆虫体内的某个生理指标为对象筛选农药的角度来看,是很有可行性的。本研究中丙环唑对斜纹夜蛾幼虫几乎无活性,但注射处理后它能影响幼虫的一系列生理指标,如幼虫血淋巴总含量降低、血细胞数减少、血淋巴中蛋白质与糖含量降低并能抑制幼虫的体重增长,最终导致虫体死亡,这说明丙环唑衍生物在害虫防治上有很好的开发前景。

参考文献 (References)

- Deng RQ, Li CY, 1995. A study on the cytopathology of larval *Spodoptera litura* infected with SLNPV. *Supplement to the Journal of Sun Yatsen University*, 2: 18–21. [邓日强, 利翠英, 1995. 斜纹夜蛾幼虫感染核型多角体病毒后血细胞的病理变化. 中山大学学报(论丛), 2: 18–21]
- Gerald LM, Katherine LS, Leon LB, 2002. Sensitivity of *Sclerotinia homoeocarpa* isolates to propiconazole and impact on control of dollar spot. *Plant Disease*, 86(11): 1 240–1 246.
- Hu MY, Zhong GH, Lin JT, Sun ZT, 2002. Effects of rhodajaponin-III on the energetic contents against imported cabbage worm (*Pieris rapae* L.). *Journal of Central China Agricultural University*, 21(4): 338–342. [胡美英, 钟国华, 林进添, 孙之潭, 2002. 间羊花素-III 对昆虫血淋巴能源物质含量的影响. 华中农业大学学报, 21(4): 338–342]
- Lewis GC, Lavender RH, Martyn TM, 1996. The effect of propiconazole on foliar fungal diseases, herbage yield and quality of perennial ryegrass. *Crop Protection*, 15(1): 91–95.
- Li ML, Zhuang SH, Zong N, 2003. Effect of tutin on several physiological indexes of armyworm. *Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry (Nat. Sci.)*, 31(6): 54–58. [李孟楼, 庄世宏, 宗娜, 2003. 马桑毒素 B 对粘虫几种生理生化指标的影响. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 31(6): 54–58]
- Mosmann T, 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assay. *J. Immunol. Methods*, 65: 56–63.
- Mu JY, Xu HF, Rong XL, 1996. General Entomology. Beijing: China Agriculture Press. 104. [牟吉元, 徐洪富, 容秀兰, 1996. 普通昆虫学. 北京: 中国农业出版社. 104]
- Stipanovic RD, Elissalde MH, Altman DW, Norman JA, 1989. Cell culture bioassay to evaluate allelochemical toxicity to *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.*, 83: 737–741.
- Tang F, Zhang CZ, Liang P, Shi XY, Gao XW, 2005. Partial purification of glutathione S-transferases by protein precipitators in the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner). *Acta Entomol. Sin.*, 48(2): 172–178. [汤方, 张常忠, 梁沛, 史雪岩, 高希武, 2005. 蛋白质沉淀剂对棉铃虫谷胱甘肽 S-转移酶的部分纯化. 昆虫学报, 48(2): 172–178]
- Wu JX, Yuan F, Su L, 2004. Change of carbohydrate contents in larvae of the wheat midge, *Sitodiplosis mosellana* (Gehin) during mature and diapause stage. *Acta Entomol. Sin.*, 47(2): 178–183. [仵均祥, 袁锋, 苏丽, 2004. 麦红吸浆虫幼虫滞育期间糖类物质变化. 昆虫学报, 47(2): 178–183]
- Zhang GZ, Wang YW, Xu HH, 2000. Affection of β -sitosterol etc. on the protein content in haemolymph of insects. *Journal of Hubei Agricultural College*, 20(3): 201–202. [张国洲, 王亚维, 徐汉虹, 2000. β -谷甾醇等化合物对昆虫血淋巴蛋白质含量的影响. 湖北农学院学报, 20(3): 201–202]
- Zhang MH, 1999. Pesticides Merchandise Manual. Shenyang: Shenyang Press. 492–658. [张敏恒, 1999. 农药商品手册. 沈阳: 沈阳出版社. 492–658]
- Zhang ZR, 2004. Culture Cytology and Technology for Cell Culture. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press. 429–430. [张卓然, 2004. 培养细胞学与细胞培养技术. 上海: 上海科学技术出版社. 429–430]
- Zhang ZX, Xu HH, Cheng DM, Wu YL, Fan JF, 2000. Screening derivatives of spiro enol ether and testing its toxicity on *Spodoptera litura* cell with MTT method. *Journal of South China Agricultural University*, 21(3): 29–32. [张志祥, 徐汉虹, 程东美, 吴毓林, 范俊发, 2000. 利用 MTT 法以茛蒿素类似物对昆虫细胞毒力筛选及测定. 华南农业大学学报, 21(3): 29–32]
- Zhou QC, Yang H, Wang H, Hong HZ, 1997. Studies on new bioassays for pesticide. II. The establishment and further development of cytobioassay for insecticide. *Journal of Central China Normal University (Nat. Sci.)*, 31(4): 456–459. [周青春, 杨红, 汪虹, 洪华珠, 1997. 农药生物测定新方法的研究: II. 杀虫剂细胞生测体系的建立及改进. 华中师范大学学报(自然科学版), 31(4): 456–459]
- Zhou T, Yao J, Wang Q, Wang FZ, 2004. Changes in content of hemolymph protein in the honeybee (*Apis mellifera* L.) workers infected by *Nosema apis* and *Varroa destructor* respectively. *Acta Entomol. Sin.*, 47(4): 530–533. [周婷, 姚军, 王强, 王凤忠, 2004. 微孢子虫和狄斯瓦螨分别侵染后的意蜂血淋巴蛋白质含量变化. 昆虫学报, 47(4): 530–533]

(责任编辑: 黄玲巧)