



几种杀虫剂对烟青虫抗氧化酶的影响

孟令玉, 朱承美, 刘世涛, 曲爱军, 温亚萌

山东农业大学植物保护学院, 山东泰安岱宗大街61号 271018

摘要: 为探讨 6 种常用杀虫剂对烟青虫抗氧化酶活性的影响, 以烟青虫 3 龄和 4 龄幼虫为材料, 应用愈创木酚法等方法测定了溴氰菊酯、高效氯氰菊酯、阿维菌素、乙酰甲胺磷、甲维盐和氯虫苯甲酰胺 6 种杀虫剂对烟青虫 3 龄和 4 龄幼虫体内超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD)、过氧化氢酶 (CAT) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GPX) 酶类活性的影响。实验结果证实, 经 6 种杀虫剂处理后, 烟青虫 3 龄和 4 龄幼虫体内的抗氧化酶活性均高于对照, 并且不同龄期的烟青虫体内各种酶活性变化趋势一致, 但 4 龄幼虫酶活性增长率低于 3 龄幼虫。表明供试杀虫剂对 3 龄和 4 龄幼虫体内酶活性均能产生一定的影响, 并且 4 龄幼虫对农药的敏感性低于 3 龄幼虫。

关键词: 杀虫剂胁迫; 烟青虫; 抗氧化酶

引用本文: 孟令玉, 朱承美, 刘世涛, 等. 几种杀虫剂对烟青虫抗氧化酶的影响 [J]. 中国烟草学报, 2018, 24 (5)

烟青虫 (*Heliothis assulta* (Guenée)), 属鳞翅目 (Lepidoptera) 夜蛾科 (Noctuidae), 是我国烟草生产常见害虫, 能造成烟叶产量 5%~10% 的损失^[1-2]。近年来, 防治烟青虫效果较好的化学药剂主要有阿维菌素、甲维盐、溴氰菊酯、高效氯氰菊酯、吡虫啉、氯虫苯甲酰胺、丁醚脲等^[3-6]。

化学药剂能引起靶标害虫体内解毒酶系统、抗氧化酶系统的变化^[7-8]。其中, 抗氧化系统主要包括抗氧化酶和抗氧化剂, 目前对超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 和过氧化物酶 (POD) 的研究较多^[7]。李周直等人证实, 溴氰菊酯处理菜粉蝶 (*Pieris rapae*)、褐边绿刺蛾 (*Parasa consocia*) 和褐刺蛾 (*Thoesa pastornata*) 后, 菜粉蝶体内 SOD、CAT、POD 的活力均有提高, 褐边绿刺蛾和褐刺蛾体内 SOD、CAT 活力随中毒程度加重而不断上升, 接近死亡时又急剧下降^[9]; 阿维菌素和辛硫磷均可导致舞毒蛾幼虫 SOD 增加^[10]; 阿维菌素处理榆紫叶甲成虫 24 h 和 36 h 后, 其体内 SOD 活性下降^[8]。

谷胱甘肽过氧化物酶 (GPX) 是生物体内广泛存在的一种重要的过氧化物分解酶, 可催化谷胱甘肽 (GSH) 产生氧化型谷胱甘肽 (GSSG), 使有毒的过氧化物还原成无毒的羟基化合物及促进过氧化氢 (H₂O₂) 分解, 从而保护生物细胞膜的结构及功能不受过氧化物的损害^[11]。目前农药对昆虫谷胱甘肽过

氧化物酶影响的研究尚未报道。本研究采用防治烟青虫常用的 6 种化学药剂处理 3 龄和 4 龄幼虫, 测定其体内抗氧化酶活性 (SOD、CAT、POD 和 GPX) 的变化, 以期为进一步解释害虫再猖獗提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫与杀虫剂

供试烟青虫为 3 龄和 4 龄幼虫, 烟青虫采自山东潍坊烟区 2 代幼虫。幼虫采回后, 置于室内用养虫笼, 采集中烟 100 烟株生长至九叶一心期的第 7 叶片喂饲幼虫, 及时清除虫粪和食物残渣, 实验前饥饿 12 h。

25 g/L 溴氰菊酯乳油 (拜耳股份公司), 4.5% 高效氯氰菊酯乳油 (江苏辉丰农化股份有限公司), 200 g/L 氯虫苯甲酰胺悬浮剂 (上海生农生化制品股份有限公司), 1.8% 阿维菌素乳油 (宁波三江益农化学有限公司), 5% 甲维盐悬浮剂 (广东植物龙生物技术股份有限公司) 和 30% 乙酰甲胺磷乳油 (山东华阳农药化工集团有限公司) 由山东农业大学植保学院农药实验室免费提供。

1.2 药剂处理

本实验杀虫剂用量为产品登记的使用量上限, 用蒸馏水按以下有效成份用量分别配制成药液: 溴氰菊酯 2500 倍、高效氯氰菊酯 3000 倍、氯虫苯甲酰胺

作者简介: 孟令玉 (1995—), 硕士研究生, 研究方向为农业害虫综合治理, Tel: 18754882895, Email: 18754882895@163.com

通讯作者: 曲爱军 (1965—), Tel: 13562805016, Email: aijunqu1965@163.com

收稿日期: 2018-02-06; **网络出版日期:** 2018-05-18

7500 倍、阿维菌素 1500 倍、甲维盐 4000 倍和乙酰甲胺磷 350 倍。

供试昆虫采用叶片药膜法处理,即选取新鲜中烟 100 叶片,浸于供试各杀虫剂药液中 5 s,叶片置于室内阴凉处,待叶片表面水膜晾干后,喂养烟青虫幼虫 6 h 后取样,每样 3 头用于测试,每药剂处理重复 3 次,以去离子水浸叶为对照。

1.3 测试指标

1.3.1 酶液提取

参照李周直^[9]和周建云^[12]等人的方法,测定样品幼虫重量,幼虫经磷酸缓冲液($0.02\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 7.2)漂洗,擦干后放入适量 PBS,冰浴中研磨成匀浆,4℃下,20000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 20 min,上清液即为酶提取液。

1.3.2 测试指标与方法

采用 SOD 测定试剂盒(A001-3,南京建成生物工程研究所)检测 SOD 活性,采用 CAT 测定试剂盒(A007-1-1)检测 CAT 活性,采用 POD 测定试剂盒(A084-3)检测 POD 活性。

采用愈创木酚法^[11]测定 GPX 活性,GPX 反应液为 100 mmol/L 磷酸缓冲溶液(pH 6.0),含有 15 mmol/L 愈创木酚、3 mmol/L H_2O_2 。取 3 mL 反应液,加入 20 μL 酶液,于 470 nm 波长下比色,每隔 1 min 记录吸光度,

共记录 3 次。GPX 酶活性以每分钟内 A470 增加 0.01 为一个过氧化物酶活性单位($\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$)。

$$\text{GPX 活性} = [\Delta A470 \times V] / [W \times 0.01 \times V_s \times t]$$

其中, $\Delta A470$ 为反应时间内吸光度的变化, V 为提取酶液总体积(mL); V_s 为测定时所取酶液体积(mL); W 为样重(g); T 为反应时间(min)。

1.4 数据处理

采用 SPSS19.0 处理实验数据。

2 结果与分析

2.1 6 种杀虫剂对 3 龄幼虫抗氧化酶活性的影响

由表 1 数据可以看出,施药 6 h 后,6 种杀虫剂均能引起 3 龄幼虫体内 SOD、POD、CAT 和 GPX 活性的上升。溴氰菊酯、高效氯氰菊酯、阿维菌素、乙酰甲胺磷和甲维盐处理后,与对照相比,SOD、POD、CAT 和 GPX 活性均显著上升。其中溴氰菊酯处理后, SOD 活性上升了 43.24%, POD 活性上升了 84.49%, CAT 活性上升了 47.33%, GPX 活性上升了 31.23%,与对照差异极显著。而氯虫苯甲酰胺处理后, SOD 活性虽比对照组上升了 4.55%, POD 活性上升了 3.27%, CAT 活性上升了 4.12%, GPX 活性上升了 4.49%,与对照相比差异均未达到显著水平。

表 1 6 种杀虫剂对 3 龄幼虫抗氧化酶活性的影响

Tab.1 Effects of six insecticides on the activity of antioxidantase in three instar larvae

供试药剂	SOD/($\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$)	POD/($\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$)	CAT/($\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$)	GPX/($\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$)
溴氰菊酯	50.35±0.34bB	4.52±0.35bB	3.58±0.26bB	36.53±0.21bB
高效氯氰菊酯	45.23±0.35bB	3.87±0.28bB	3.12±0.27bB	32.68±0.23bB
阿维菌素	44.68±0.32bB	3.64±0.31bB	2.96±0.28bB	31.57±0.18bB
乙酰甲胺磷	38.43±0.31bB	2.95±0.22bB	2.67±0.25bB	27.42±0.21bB
甲维盐	37.86±0.18bB	2.68±0.23bB	2.58±0.16bB	26.88±0.15bB
氯虫苯甲酰胺	36.75±0.23aA	2.53±0.15aA	2.53±0.18aA	26.25±0.11aA
对照	35.15±0.16aA	2.45±0.12aA	2.43±0.13aA	25.12±0.13aA

注: 同列数字后不同小写字母表示 5% 水平显著, 不同大写字母表示 1% 水平显著, 下表同。

Note: the different lowercase letters in the same column indicate that the 5% level is significant. The different capital letters indicate that the 1% level is significant. The same hereafter.

2.2 6 种杀虫剂对 4 龄幼虫抗氧化酶活性的影响

表 2 中的数据显示,6 种杀虫剂处理 6 h 后,均能不同程度提高烟青虫 4 龄幼虫体内抗氧化酶的活性。溴氰菊酯处理后,各项抗氧化酶增加最为明显,其中, SOD 活性上升了 42.05%, POD 活性上升了 83.02%, CAT 活性上升了 45.22%, GPX 活性上升

了 30.37%, 各项指标与对照差异均显著。与对照相比, 高效氯氰菊酯、阿维菌素、乙酰甲胺磷和甲维盐处理后, 4 龄幼虫体内抗氧化酶的活性均显著上升。氯虫苯甲酰胺处理后, SOD 活性与对照相比上升了 4.43%, POD 活性上升了 3.21%, CAT 活性上升了 4.04%, GPX 活性上升了 4.11%, 但差异均不显著。

表 2 6 种杀虫剂对 4 龄幼虫抗氧化酶活性的影响
Tab.2 Effects of six insecticides on the activity of antioxidantase in four instar larvae

供试药剂	SOD/(U·mg ⁻¹)	POD/(U·mg ⁻¹)	CAT/(U·mg ⁻¹)	GPX/(U·mg ⁻¹)
溴氰菊酯	47.63±0.32bB	3.99±0.36bB	3.95±0.24bB	31.12±0.23bB
高效氯氰菊酯	43.72±0.34bB	3.46±0.32bB	3.61±0.28bB	29.79±0.21bB
阿维菌素	43.05±0.25bB	3.39±0.35bB	3.54±0.25bB	29.02±0.22bB
乙酰甲胺磷	37.26±0.21bB	2.53±0.32bB	3.12±0.26bB	26.73±0.17bB
甲维盐	35.45±0.23bB	2.38±0.28bB	2.97±0.13bB	25.35±0.18bB
氯虫苯甲酰胺	34.97±0.18aA	2.25±0.17aA	2.83±0.15aA	24.85±0.13aA
对照	33.53±0.16aA	2.18±0.13aA	2.72±0.11aA	23.87±0.15aA

3 讨论与结论

昆虫在逆境胁迫（含农药）下，体内通过抗氧化酶和抗氧化剂系统抵御活性氧损伤，抗氧化酶系统是公认的普遍存在于生物体内的保护酶系统^[13]，昆虫在各种胁迫因子作用下，如农药、寄生、紫外线^[14]、热、冷等，抗氧化酶和抗氧化物质是消除胁迫途径之一。昆虫体内抗氧化酶主要有 SOD、CAT、POD^[7,9]、谷胱甘肽还原酶（GR）、硫氧还蛋白还原酶（TrxR）^[15]、酚氧化酶（PO）^[16]等，抗氧化剂有黑色素^[17]、GSH^[18]、β-胡萝卜素和维生素 E^[19]等。

SOD 是生物体内抗氧化系统的第一道防线，消除超氧化物阴离子自由基，产生 H₂O₂^[20]。褐飞虱（*Nilaparvata lugens*）等昆虫在溴氰菊酯等处理后，昆虫体内 SOD 活性均有不同程度增加^[21,9]，这与本实验结果一致，表明昆虫本身能提高 SOD 酶活性，以适应农药毒害的影响。POD 是由微生物或植物所产生的一类氧化还原酶，主要位于过氧化物酶体中，具有清除过氧化氢，消除胺类和酚类毒性的作用^[11]。本研究幼虫经 6 种杀虫剂处理后，POD 活性均较对照有所上升，说明供试杀虫剂能够激活烟青虫体内 POD 活性，以清除杀虫剂毒害。CAT 是一类广泛存在于动物、植物和微生物体内的末端氧化酶，是清除细胞内 H₂O₂ 的主要酶类^[22]。在高浓度吡虫啉、低浓度灭幼脲、百树菊酯和功夫菊酯胁迫下，榆紫叶甲成虫 CAT 活性提高，与本研究结果相吻合，表明 CAT 也是昆虫应对农药毒害途径之一。GPX 的功能是分解是过氧化物和 H₂O₂^[11]。本研究幼虫经 6 种杀虫剂处理后，GPX 活性均较对照有所上升，表明 GPX 也是烟青虫清除供试杀虫剂毒害途径之一。

本研究分别测定了溴氰菊酯、高效氯氰菊酯、阿维菌素、乙酰甲胺磷、甲维盐和氯虫苯甲酰胺对 3 龄和 4 龄烟青虫幼虫体内 SOD、POD、CAT 和 GPX4 种抗氧化酶活性的影响。结果表明，经 6 种杀虫剂处理后，3 龄和 4 龄幼虫体内 4 种抗氧化酶活性均有上升，且 3 龄幼虫体内四种酶活性的增幅稍高于 4 龄幼虫。溴氰菊酯处理的酶活变化最明显，其次为高效氯氰菊酯、阿维菌素、乙酰甲胺磷和甲维盐，与对照均有显著差异，而氯虫苯甲酰胺处理后，4 种酶活性与对照相比差异均不显著。

化学农药在生产使用过程中，通常会引起害虫 3R 问题，而昆虫体内这些抗氧化酶和物质与害虫再猖獗及抗性有何种关系，以及昆虫体内由哪些抗氧化酶和物质组成，均有待于进一步探讨和研究。

参考文献

[1] 杨录明, 杨本立, 普耀芳, 等. 烟青虫生物学特性观察 [J]. 云南农业大学学报, 1999, 14(1): 11-15.
YANG Luming, YANG Benli, PU Yaofang, et al. An observation on the bionomics of *Heliothis assulta* (Guenee) in Honghe prefecture of Yunnan[J]. Journal of Yunnan Agricultural University, 1999, 14(1): 11-15.

[2] 谢立群, 杨效文, 张孝羲. 烟青虫主要生物学特性及防治方法的研究现状 [J]. 烟草科技 1997, 2: 46-47.
XIE Liqun, YANG Xiaowen, ZHANG Xiaoxi. Research status of the main biological characteristics and control methods of *Heliothis assulta* (Guenee) [J]. Tobacco Science & Technology, 1999, 14(1): 11-15.

[3] 沈阳, 陈晓燕, 朱聿振. 综合防治技术在烟蚜和烟青虫上的应用 [J]. 植物医生, 2014, 27(3): 36-37.
SHEN Yang, CHEN Xiaoyan, ZHU Zhaozhen. Application of IPC in *Myzus persicae* (Sulzer) and *Heliothis assulta* (Guenee) [J]. Plant Doctor, 2014, 27(3): 36-37.

[4] 陈庭慧, 段玉琪, 冯再兴, 等. 7 种生物药剂防治烟青虫的田间药效试验 [J]. 广东农业科学, 2013, 40(24): 67-70.
CHEN Tinghui, DUAN Yuqi, FENG Zaixing, et al. Field experiments of 7 pesticides for controlling *Helicoverpa assulta*

- Guene[J]. Guangdong Agricultural Science, 2013,40(24): 67-70.
- [5] 陈芝波,姚峰,廖伟,等. 4种不同药剂对烟青虫防治效果的研究[J]. 湖南农业科学, 2016(2): 70-72.
CHEN Zhibo, YAO Feng, LIAO Wei, et al. Control effects of four kinds of pesticides on tobacco budworm [J]. Hunan Agricultural Science, 2016(2): 70-72.
- [6] 何永新. 多种药剂防治春烤烟烟青虫田间药效试验[J]. 南方园艺, 2017, 28(3): 45-46.
HE Yongxin. Field experiments of pesticides for controlling *Helicoverpa assulta* Guene[J]. Southern Horticulture, 2017, 28(3): 45-46.
- [7] 刘井兰, 于建飞, 吴进才, 等. 昆虫活性氧代谢[J]. 昆虫知识, 2006, 43(6): 752-756.
LIU Jinglan, YU Jianfei, WU Jincai, et al. Insect reactive oxygen metabolism[J]. Chinese Bulletin of Entomology, 2006, 43(6): 752-756.
- [8] 王莹. 6种杀虫剂对不同农药对榆紫叶甲保护酶和解毒酶活性的影响[D]. 2016.
WANG Ying. Effect of six pesticides on the activities of the protective enzymes and detoxifying enzymes in *Ambrostoma quadripressum* Motsch[D]. 2016.
- [9] 李周直, 沈惠娟, 蒋巧根, 等. 几种昆虫体内保护酶系统活力的研究[J]. 昆虫学报, 1994, 37(4): 399-403.
LI Zhouzhi, SHEN Huijuan, JIANG Qiaogen, et al. A Study on the activities of endogenous enzymes of protective system in some insects[J]. Acta Entomologica Sinica, 1994, 37(4): 399-403.
- [10] 查黎春. 三种农药对天幕毛虫、舞毒蛾超氧化物歧化酶、过氧化氢酶活性的影响[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2011.
ZHA Lichun. The influences of the three pesticides to *Malacosoma neustria testacea* Motschulsky and *Lymantria dispar* Linnaeus superoxide dismutase (SOD) and Catalase (CAT) activity[D]. 2011.
- [11] 张悦. 玉米幼苗对五种化学杀虫剂胁迫的生理响应[D]. 泰安: 山东农业大学, 2013.
ZHANG Yue. The physiological responses of maize seedlings to five chemical insecticides stress[D]. 2013.
- [12] 周建云, 刘明科, 肖丽娜, 等. 烟青虫高毒力白僵菌菌株筛选及其感菌后体内保护酶活性的变化[J]. 安徽农业大学学报, 2017, 44(6): 1-5.
ZHOU Jianyun, LIU Mingke, XIAO Lina, et al. Screening of high virulent isolate of *Beauveria* spp. against *Helicoverpa assulta* and changes of protective enzymes activities in the larvae infected by fungi[J]. Journal of Anhui Agricultural University, 2017, 44(6): 1-5.
- [13] FRIDOVICH I. Oxygen is toxic[J]. Biosciences, 1977, 22(7): 462.
- [14] 张海玲, 周正湘. 紫外线对烟青虫血细胞数及 SOD 活性的影响[J]. 贵州农业科学, 2015, 43(5): 98-100.
ZHANG Hailing, ZHOU Zhengxiang. Influence of Ultraviolet on the Number of Haemocytes and Superoxide Dismutase Activity from *Helicoverpa assulta*[J]. Guizhou Agricultural Science, 2015, 43(5): 98-100.
- [15] CARMEL-HAREL O, STORZ G. Roles of the glutathione- and thioredoxin-dependent reduction systems in the Escherichia coli and saccharomyces cerevisiae responses to oxidative stress.[J]. Annual Review of Microbiology, 2000, 54: 439-461.
- [16] 冯从经, 戴华国, 符文俊. 腰带长体茧蜂寄生后亚洲玉米螟体内抗氧化酶活性及组织特异性[J]. 南京农业大学学报, 2002, 25(3): 31-35.
FENG Congjing, DAI Huaguo, FU Wenjun. The activity and tissue specificity of antioxidant enzymes in larvae of *Ostrinia furnacalis* (Guene) parasitized by *Macrocentrus cingulum* Briske[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2002, 25(3): 31-35.
- [17] SICHEL G, CORSARO C, SCALIA M, et al. Relationship between melanin content and superoxide dismutase (SOD) activity in the liver of various species of animals.[J]. Cell Biochemistry & Function (Print), 1987, 5(2): 123-128.
- [18] MISSIRLIS F, PHILLIPS JP, JÄCKLE H. Cooperative action of antioxidant defense systems in Drosophila[J]. Curr. Biol., 2001, 11(16): 1272-1277.
- [19] AUCCOIN RR, PHILOGENE BJR, ARNASON JT. Antioxidant enzymes as biochemical defenses against phototoxin-induced oxidative stress in three species of herbivorous lepidoptera[J]. Arch. Insect Biochem. Physiol., 1991, 16(2): 139-152.
- [20] 曲爱军, 郭丽红, 孙绪良, 等. 农药胁迫对大叶黄杨 SOD 和脯氨酸含量的影响[J]. 农药, 2006, 45, (1): 35-37.
QU Aijun, GUO Lihong, SUN Xugen, et al. Effects of pesticide stress on free proline and SOD content in *Euonymus japonica*. Chinese Journal of Pesticides, 2006, 45, (1): 35-37.
- [21] 刘井兰, 吴进才, 袁树忠, 等. 经除草剂处理的水稻对褐飞虱体内几种酶及水稻受褐飞虱为害程度的影响[J]. 中国水稻科学, 2001, 15(4): 303-308.
LIU Jinglan, WU Jincai, YUAN Shuzhong, et al. Effects of the Rice Treated with Herbicides on Several Enzymes of Brown Planthopper, and on Incidence of Rice Injury by Brown Planthopper[J]. Chinese Journal of Rice Science, 2001, 15(4): 303-308.
- [22] FRANK V, EVA V, JAMES FD. The role of active oxygen species in plant signal transduction[J]. Plant Science, 2001, 161(1): 405-414.

Effects of several insecticides on antioxidase of *Heliothis assulta*

MENG Lingyu, ZHU Chengmei, LIU Shitao, QU Aijun^{*}, WEN Yameng

College of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Taian 271018, Shandong, China

Abstract: Effects of six insecticides, i.e. deltamethrin, beta-cypermethrin, abamectin, acephate, emamectin benzoate, chlorantraniliprole, on activity of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX) in third and fourth instar larvae of *H. assulta* were determined by guaiacol method. Experimental results showed that the activity of antioxidase in third and fourth instar larvae of *H. assulta* was higher than control group under six kinds of insecticides stress and the variation trend of various enzyme activities in third and fourth instar larvae of *H. assulta* was consistent. Results also showed that the tested insecticides could have a certain effect on enzyme activity of third and fourth instar larvae and the sensitivity of fourth instar larvae to insecticides was lower than that of third instar larvae.

Keywords: insecticides stress; *Heliothis assulta* (Guenée); antioxidase

Citation: MENG Lingyu, ZHU Chengmei, LIU Shitao, et al. Effects of several insecticides on antioxidase of *Heliothis assulta* [J]. Acta Tabacaria Sinica, 2018, 24(5)

*Corresponding author. Email: aijunqu1965@163.com