

论 文

甜菜夜蛾体内酶活性对三种棉酚含量棉花的响应

吴刚^{①②}, Marvin K. Harris^③, 郭建英^{①④*}, 万方浩^{①④*}

① 中国农业科学院植物保护研究所, 植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100081;

② 华中农业大学植物科技学院, 武汉 430070;

③ Department of Entomology, Texas A&M University of USA, TX, USA;

④ 中国农业部外来入侵生物预防与控制研究中心, 北京 100081;

* 联系人, E-mail: guojy@cjac.org.cn; wanfahg@public3.bta.net.cn

收稿日期: 2008-07-16; 接受日期: 2009-04-29

国家重点基础研究发展计划(批准号: 2006CB102004)、国家自然科学基金(批准号: 30800724)、中国博士后科学基金(批准号: 200801132 和 20080430054)和国家农业部转基因生物新品种培育科技重大专项(批准号: 2008ZX08012-004, 2009ZX08011-013B, 2009ZX08012-005B)资助项目

摘要 在室内用 3 种不同棉酚含量的棉花饲养甜菜夜蛾幼虫, 并在不同取食时间测定了甜菜夜蛾幼虫的营养物质、消化酶、保护酶和解毒酶活性的变化. 实验结果表明, 甜菜夜蛾幼虫取食高棉酚含量的棉花 M9101 品种 6 h 后, 体内的游离脂肪酸较取食其他两种低酚含量棉花出现了显著性的降低. 甜菜夜蛾幼虫取食高棉酚含量的棉花 M9101 品种 24 h 后, 体内的胰蛋白酶较取食 1, 4, 6 h 后出现了显著性的增加. 甜菜夜蛾幼虫取食高棉酚含量的棉花 M9101 品种 1, 4, 6, 24 h 后, 体内的过氧化氢酶和总超氧化物歧化酶显著高于取食低酚棉花品种 ZMS13 和 HZ401, 但体内显著较低的羧酸酯酶和乙酰胆碱酯酶活性显著低于取食低酚棉花品种 ZMS13 和 HZ401. 多因素方差分析表明, 不同棉酚含量棉花品种除对甜菜夜蛾幼虫体内淀粉酶活性无影响外, 对其他消化酶、保护酶和解毒酶活性均有显著性的影响. 棉花品种和甜菜夜蛾不同为害时间的交互作用可显著影响甜菜夜蛾幼虫体内的羧酸酯酶和过氧化氢酶活性. 测定对甜菜夜蛾不同为害时间体内酶活性对不同棉酚含量的棉花的响应, 可有效评估植食性昆虫在植物次生代谢物质压力下的生理反应和抗性变化.

关键词甜菜夜蛾
棉酚
游离脂肪酸
解毒酶
乙酰胆碱酯酶
总过氧化物歧化酶

由害虫造成的主要作物损失估计为 10%~20%, 这是限制粮食生产的一个重要因素^[1]. 植食性昆虫幼虫时期的杀虫剂应用是主要的防治方法, 但大多数杀虫剂所产生的高抗性及相关的环境问题可能会危及它们的持续使用^[2-4]. 因此, 防治计划应尽可能依靠替代策略, 防止种群暴发的发生或降低管理成本^[5].

植物次生化学防御物质的应用是有效补充杀虫剂和天敌的可行性手段之一^[5,6-9]. 植物内源性次生防

御化学物质-棉酚可有效防治植食性昆虫的危害, 并已被棉花种植者采用来进行植食性昆虫的管理^[10]. 棉酚是一种酚醛倍半萜类化合物, 是酚棉品种中一种重要的化感物质. 这种化感物质对许多害虫显示出抗生作用并有助于形成酚棉品种的寄主植物抗性^[11]. 已有研究调查棉酚水平和蚜虫种群丰富度关系的实验^[12,13]. Du 等人^[14]和 Gao 等人^[10]指出含棉酚量高的棉株对棉蚜(*Aphis gossypii* Glover)有抗生效果并对第三营养水平上的龟纹瓢虫(*Propylaea japonica*

Thunberg)产生积极作用. Chen等人^[15,16]报道, 对蚜虫具有高抗性的小麦含有高含量的酚类和单宁.

甜菜夜蛾(*Spodoptera exigua* Hübner)对多种作物构成危害, 在中国造成了严重的经济损失. 作为棉花害虫生物防治的一部分, 甜菜夜蛾的防治主要是采用抗性棉花品种. 作为棉花重要的害虫, 甜菜夜蛾于2001年在中国被列入重要害虫的潜在爆发名单^[17,18]. 过去化学防治控制甜菜夜蛾的失败, 促使科研工作者寻求有效措施(如植物抗性和天敌)来进行有害生物综合管理(IPM). 植物的拮抗化合物主要影响昆虫解毒酶, 这种作用与寄主植物内的次生代谢产物水平密切相关^[19]. 大多数已发表的文章主要围绕甜菜夜蛾体内酶活性对杀虫剂的响应^[20,21]. 迄今为止, 很少有实验来评价植物体内的次生物质对甜菜夜蛾体内酶活性的影响, 特别是甜菜夜蛾体内保护酶和解毒酶的时间变化. 植物次生代谢物质介导引起的变化可能导致植食性昆虫的抗性发生变化以及耐受性的演变.

因此, 本实验在室内用3种不同棉酚含量的棉花(高棉酚含量棉花 M9101, 低棉酚含量棉花 ZMS13 和中棉酚含量棉花 HZ401)饲养甜菜夜蛾幼虫, 并在不同取食时间测定了甜菜夜蛾幼虫的保护酶(如过氧化氢酶、过氧化物酶和总超氧化物歧化酶)和解毒酶(如羧酸酯酶和乙酰胆碱酯酶)活性的变化. 本实验旨在探讨: (1) 植物内源性次生抗虫化学物质对甜菜夜蛾体内营养物质(蛋白质、葡萄糖和总氨基酸)和酶活性的间接定量的影响; (2) 比较甜菜夜蛾体内的保护酶和解毒酶活性在不同时间内对植物内源性次生抗虫化学物质的响应; (3) 评估棉花品种和甜菜夜蛾为害时间的交互作用对甜菜夜蛾保护酶和解毒酶活性的影响.

1 材料与方法

1.1 棉花品种与生长条件

本实验选取3种不同棉酚含量的棉花(ZMS13, HZ401 和M9101), 其棉酚含量分别为0.06%, 0.44%和1.12%^[10,14]. 3个棉花品种分别种植于白色塑料盆(直径15 cm, 高13 cm), 并放入恒温室内饲养. 恒温室温度为(28±1)℃, 相对湿度为70%~80%. 每一棉花

品种160盆随机置于恒温室内, 每周重新进行随机放置, 以减小位置对其产生的影响. 整个实验过程中未施用任何化学肥料和杀虫剂.

1.2 供试甜菜夜蛾

甜菜夜蛾卵块由中国科学院动物研究所昆虫病理生理学实验室秦启联老师提供, 并于人工气候箱(型号: PRX-500D-30, 中国宁波海曙赛福实验仪器厂)中孵化, 人工气候箱空气相对湿度为(75±5)%, 温度(28±0.5)℃, 光周期为L:D=14:10, 由39个26 W的荧光灯提供30000 LX的有效光强.

1.3 甜菜夜蛾为害实验处理

甜菜夜蛾的为害实验于恒温室内进行, 恒温室内温度为(28±1)℃, 空气相对湿度为70%~80%.

在棉花植株7叶期(约种植后35~40天), 随机从人工气候箱取出用人工饲料饲养至4龄的甜菜夜蛾幼虫, 接种在人工气候箱内种植3种棉花叶片上, 在每株棉花自地面向上的第4片叶片上接种甜菜夜蛾幼虫1头, 每盆棉花以细孔纱网罩住, 以防止其他昆虫的为害. 每处理10盆, 4次重复, 每棉花品种4次甜菜夜蛾为害处理(即为害时间分别为1, 4, 6和24 h), 每棉花品种每处理共需40头甜菜夜蛾, 在甜菜夜蛾幼虫为害1, 4, 6和24 h后, 收集甜菜夜蛾幼虫测定其营养成分、消化酶和解毒酶.

1.4 甜菜夜蛾体内营养物质和酶活性的测定

对甜菜夜蛾进行生物化学实验, 以测验甜菜夜蛾对不同棉酚含量棉花品种是否产生了明显的生理代谢变化. 用4种营养物质(蛋白质、总氨基酸、游离脂肪酸和葡萄糖)、3种消化酶(脂肪酶、胰蛋白酶和淀粉酶)、5种保护酶和解毒酶(羧酸酯酶、乙酰胆碱酯酶、过氧化氢酶、总超氧化物歧化酶和过氧化物酶)来检测3种不同棉酚含量的棉花对甜菜夜蛾体内酶活性的影响. 采用Van Asperen^[22]的方法测定羧酸酯酶活性. 营养成分和酶活性的测定方法参照试剂盒(中国江苏省南京建成生物制剂有限公司)进行检测. 采用牛血清白蛋白(中国江苏省南京建成生物制剂有限公司)为标准的Bradford^[23]方法测定相关甜菜夜蛾的蛋白浓度.

1.5 数据分析

用SAS6.12(SAS Institute Inc. USA, 1996)^[24]统计分析软件分析处理间实验数据的显著性差异. 单因素方差分析用于分析不同为害时间对取食 3 种棉花品种下甜菜夜蛾体内的营养物质和酶活性的影响. 双因素方差分析用于分析棉花品种和为害时间以及两者之间的交互作用对甜菜夜蛾体内营养物质和酶活性的影响. 处理间的显著性差异用LSD进行检验.

2 结果

2.1 3 种不同棉酚含量的棉花对甜菜夜蛾幼虫体内营养成分的影响

(1) 蛋白质和总氨基酸. 从表 1 可以看出, 棉花品种显著影响甜菜夜蛾体内的蛋白($P<0.05$)和总氨基酸($P<0.01$)含量. 甜菜夜蛾的为害时间显著影响甜菜夜蛾体内总氨基酸含量($P<0.001$). 棉花品种和甜菜夜蛾的为害时间的交互作用对甜菜夜蛾体内的蛋白和总氨基酸含量没有显著影响($P>0.05$).

由表 2 可以见, 甜菜夜蛾取食高棉酚含量棉花 M9101 品种 24 h 后, 体内的蛋白含量较取食其他两种

低酚含量棉花 ZMS13 和 HZ401 出现了明显的降低($F=6.51, df=2,9, P=0.0178$). 甜菜夜蛾取食中棉酚含量的棉花 HZ401 品种 6 和 24 h 后, 幼虫体内的总氨基酸含量显著低于其取食 1 和 4 h 后的总氨基酸含量($F=8.15, df=3,12, P=0.0032$). 甜菜夜蛾取食 ZMS13 品种 6 h 后, 体内的总氨基酸较取食其他两种棉酚含量的棉花 M9101 和 HZ401 出现了显著增加($F=5.50, df=2,9, P=0.0275$). 而甜菜夜蛾取食高棉酚含量棉花 M9101 品种 4 h 后, 体内的总氨基酸含量然较取食其他两种低酚含量棉花 ZMS13 和 HZ401 出现了显著降低($F=6.11, df=2,9, P=0.0211$).

表 1 棉花品种、甜菜夜蛾为害时间及其两者之间的交互作用对甜菜夜蛾体内营养物质的影响^{a)}

测定指标	棉花品种	为害时间	棉花品种× 为害时间
蛋白质	0.0181*	0.3548	0.3153
总氨基酸	0.005**	0.0008***	0.0999
游离脂肪酸	0.0169*	0.0483*	0.8810
葡萄糖	0.0310*	0.3028	0.0759

a) 棉花品种: ZMS13, HZ401, M9101; 为害时间: 1, 4, 6 和 24 h. * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$

表 2 甜菜夜蛾取食 3 种不同棉酚棉花品种不同时间后体内营养物质的变化(平均值±标准差)

为害时间/h	营养成分	棉花品种		
		M9101	HZ401	ZMS13
1	蛋白质(g/L)	0.83 ± 0.04 ^{a,A}	0.83 ± 0.04 ^{a,B}	0.85 ± 0.05 ^{a,A}
	总氨基酸(μmol/mL)	51.4 ± 2.5 ^{a,A}	53.8 ± 2.1 ^{a,A}	53.6 ± 2.0 ^{a,A}
	游离脂肪酸(μmol/mL)	508 ± 5 ^{a,A}	505 ± 22 ^{a,A}	519 ± 16 ^{a,A}
4	葡萄糖(mg/dL)	4.07 ± 0.10 ^{b,A}	4.36 ± 0.07 ^{a,A}	4.29 ± 0.21 ^{ab,A}
	蛋白质(g/L)	0.84 ± 0.04 ^{a,A}	0.88 ± 0.01 ^{a,A}	0.86 ± 0.03 ^{a,A}
	总氨基酸(μmol/mL)	48.8 ± 1.7 ^{b,A}	51.6 ± 0.6 ^{a,A}	52.2 ± 1.9 ^{a,AB}
6	游离脂肪酸(μmol/mL)	505 ± 22 ^{a,A}	516 ± 9 ^{a,A}	524 ± 33 ^{a,A}
	葡萄糖(mg/dL)	4.19 ± 0.21 ^{a,A}	4.07 ± 0.10 ^{a,B}	4.15 ± 0.14 ^{a,A}
	蛋白质(g/L)	0.83 ± 0.01 ^{a,A}	0.87 ± 0.01 ^{a,AB}	0.85 ± 0.05 ^{a,A}
24	总氨基酸(μmol/mL)	49.6 ± 1.5 ^{b,A}	49.0 ± 2.4 ^{b,B}	53.0 ± 1.4 ^{a,A}
	游离脂肪酸(μmol/mL)	493 ± 19 ^{b,A}	513 ± 9 ^{a,A}	519 ± 8 ^{a,A}
	葡萄糖(mg/dL)	4.00 ± 0.14 ^{b,A}	4.31 ± 0.03 ^{a,A}	4.31 ± 0.18 ^{a,A}
24	蛋白质(g/L)	0.81 ± 0.01 ^{b,A}	0.85 ± 0.01 ^{ab,AB}	0.89 ± 0.05 ^{a,A}
	总氨基酸(μmol/mL)	49.9 ± 2.5 ^{a,A}	48.7 ± 0.9 ^{a,B}	50.1 ± 1.8 ^{a,B}
	游离脂肪酸(μmol/mL)	492 ± 27 ^{a,A}	490 ± 15 ^{a,B}	509 ± 10 ^{a,A}
	葡萄糖(mg/dL)	4.22 ± 0.16 ^{a,A}	4.26 ± 0.20 ^{a,A}	4.24 ± 0.15 ^{a,A}

a) 同一行中, 不同小写字母表示不同棉花品种间进行横向比较(最小显著性检验, $P<0.05, df=2, 9$); 同一列中, 不同大写字母表示不同为害时间的营养物质间进行纵向比较(最小显著性检验, $P<0.05, df=3, 12$)

(2) 游离脂肪酸和葡萄糖. 从表 1 可以看出, 棉花品种显著地影响了甜菜夜蛾体内游离脂肪酸 ($P<0.05$)和葡萄糖($P<0.05$)含量. 甜菜夜蛾的为害时间显著地影响了甜菜夜蛾体内的游离脂肪酸含量 ($P<0.001$).

从表 2 可以看出, 甜菜夜蛾取食高棉酚含量棉花 M9101 品种 6 h 后, 体内的游离脂肪酸含量较取食其他两种低酚含量棉花 ZMS13 和 HZ401 出现了显著降低($F=7.31, df=2,9, P=0.0130$). 甜菜夜蛾取食中棉酚含量的棉花 HZ401 品种 24 h 后, 幼虫体内的游离脂肪酸含量显著低于其取食 1, 4 和 6 h 后的游离脂肪酸含量($F=4.01, df=3,12, P=0.0343$). 甜菜夜蛾取食高棉酚含量棉花 M9101 品种 1 h($F=4.61, df=2,9, P=0.0419$)和 6 h($F=7.00, df=2,9, P=0.0419$)后, 幼虫体内的葡萄糖含量较取食其他两种低酚含量棉花 ZMS13 和 HZ401 出现了显著性的降低. 甜菜夜蛾取食中棉酚含量的棉花 HZ401 品种 4 h 后, 幼虫体内的葡萄糖含量显著低于其取食 1, 6 和 24 h 后的葡萄糖含量 ($F=4.53, df=3,12, P=0.0241$).

2.2 3 种不同棉酚含量的棉花对甜菜夜蛾幼虫体内消化酶的影响

从表 3 可以看出, 棉花品种显著地影响了甜菜夜蛾体内的脂肪酶($P<0.001$)和胰蛋白酶($P<0.0001$)活性.

甜菜夜蛾的为害时间显著地影响了甜菜夜蛾体内的胰蛋白酶活性($P<0.001$).

从表 4 可以看出, 甜菜夜蛾取食高棉酚含量棉花 M9101 品种 1($F=121.68, df=2,9, P=0.0001$), 4($F=196.10, df=2,9, P=0.0001$), 6($F=192.96, df=2,9, P=0.0001$)和 24 h($F=287.22, df=2,9, P=0.0001$)后, 幼虫体内的脂肪酶含量较取食其他两种低酚含量棉花 ZMS13 和 HZ401 出现了显著性的降低. 甜菜夜蛾取食高棉酚含量棉花 M9101 品种 24 h 后, 幼虫体内的脂肪酶含量显著低于其取食 1, 4 和 6 h 后的脂肪酶含

表 3 棉花品种、甜菜夜蛾为害时间和它们之间的交互作用对甜菜夜蛾体内酶活性的影响^{a)}

测定指标	棉花品种	为害时间	棉花品种×为害时间
Lipase	0.0001	0.0689	0.9797
Trypsin	0.0001	0.0001	0.2505
Amylase	0.0957	0.6365	0.5206
§ CarE	0.0001	0.0001	0.0386
& AChE	0.0001	0.0005	0.8809
※ CAT	0.0001	0.0019	0.0302
§ T-SOD	0.0001	0.0001	0.2436
※ POD	0.0001	0.0001	0.3312

a) 棉花品种: ZMS13, HZ401, M9101; 为害时间: 1, 4, 6 和 24 h; §CarE: 羧酸酯酶; ※CAT: 过氧化氢酶; &AChE: 乙酰胆碱酯酶; §T-SOD: 总超氧化物歧化酶; ※POD: 过氧化物酶. $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$

表 4 甜菜夜蛾取食 3 种棉花品种不同时间体内消化酶活性的变化(平均值±标准差)^{a)}

为害时间/h	消化酶	棉花品种		
		M9101	HZ401	ZMS13
1	脂肪酶(U/gprot)	1434±31 ^{c, A}	1608 ± 27 ^{b, A}	1786 ± 45 ^{a, A}
	胰蛋白酶(U/mL)	1764±28 ^c	1497 ± 41 ^{b, A}	1412 ± 15 ^{a, A}
	淀粉酶(U/dL)	140±3 ^{a, A}	138 ± 4 ^{a, A}	138 ± 6 ^{a, A}
4	脂肪酶(U/gprot)	1419±8 ^{c, AB}	1589 ± 11 ^{b, A}	1758 ± 40 ^{a, A}
	胰蛋白酶(U/mL)	1746±14 ^{c, A}	1513 ± 43 ^{b, A}	1428 ± 23 ^{a, A}
	淀粉酶(U/dL)	140±5 ^{a, A}	140 ± 2 ^{a, A}	136 ± 2 ^{a, A}
6	脂肪酶(U/gprot)	1413±14 ^{c, AB}	1590 ± 19 ^{b, A}	1758 ± 36 ^{a, A}
	胰蛋白酶(U/mL)	1736±23 ^{c, A}	1485 ± 38 ^{b, A}	1404 ± 33 ^{a, AB}
	淀粉酶(U/dL)	140±3 ^{a, A}	134 ± 4 ^{a, A}	136 ± 4 ^{a, A}
24	脂肪酶(U/gprot)	1402±13 ^{c, B}	1579 ± 34 ^{b, A}	1761 ± 4 ^{a, A}
	胰蛋白酶(U/mL)	1658±39 ^{c, B}	1468 ± 27 ^{b, A}	1371 ± 24 ^{a, B}
	淀粉酶(U/dL)	138±4 ^{a, A}	139 ± 3 ^{a, A}	135 ± 2 ^{a, A}

a) 同一行中, 不同小写字母表示不同棉花品种间进行横向比较(最小显著性检验, $P<0.05, df=2, 9$); 同一列中, 不同大写字母表示不同为害时间的营养物质间进行纵向比较(最小显著性检验, $P<0.05, df= 3, 12$)

量($F=4.01, df=3,12, P=0.0344$).

甜菜夜蛾取食高棉酚含量棉花 M9101 品种 1($F=145.95, df=2,9, P=0.0001$), 4($F=128.24, df=2,9, P=0.0001$), 6($F=114.71, df=2,9, P=0.0001$) 和 24 h($F=89.90, df=2,9, P=0.0001$)后, 幼虫体内的胰蛋白酶含量较取食其他两种低酚含量棉花 ZMS13 和 HZ401 出现了显著性的降低. 甜菜夜蛾取食高棉酚含量棉花 M9101($F=11.34, df=3,12, P=0.0008$)和低棉酚含量棉花 ZMS13($F=3.71, df=3,12, P=0.0426$)24 h 后, 幼虫体内的胰蛋白酶含量显著低于其取食 1, 4 和 6 h 后的胰蛋白酶含量.

2.3 3 种不同棉酚含量的棉花对甜菜夜蛾幼虫体内保护酶和解毒酶的影响

从表 3 可以看出, 棉花品种显著影响甜菜夜蛾体内的羧酸酯酶($P<0.001$)、乙酰胆碱酯酶($P<0.0001$)、过氧化氢酶($P<0.0001$)、总超氧化物歧化酶($P<$

0.0001)和过氧化物酶($P<0.001$)的活性. 甜菜夜蛾的为害时间显著影响甜菜夜蛾体内的羧酸酯酶($P<0.001$)、乙酰胆碱酯酶($P<0.001$)、过氧化氢酶($P<0.01$)、总超氧化物歧化酶($P<0.0001$)和过氧化物酶($P<0.001$)的活性. 棉花品种和甜菜夜蛾为害时间的交互作用显著影响甜菜夜蛾体内的羧酸酯酶($P<0.05$)和过氧化氢酶($P<0.05$)的活性从表 5 可以看出, 甜菜夜蛾取食高棉酚含量棉花 M9101 品种 1 h(羧酸酯酶: $F=307.60, df=2,9, P=0.0001$; 乙酰胆碱酯酶: $F=127.65, df=2,9, P=0.0001$); 4(羧酸酯酶: $F=412.13, df=2,9, P=0.0001$; 乙酰胆碱酯酶: $F=137.86, df=2,9, P=0.0001$), 6(羧酸酯酶: $F=425.16, df=2,9, P=0.0001$; 乙酰胆碱酯酶: $F=254.48, df=2,9, P=0.0001$)和 24 h(羧酸酯酶: $F=308.82, df=2,9, P=0.0001$; 乙酰胆碱酯酶: $F=171.42, df=2,9, P=0.0001$)后, 幼虫体内的羧酸酯酶和乙酰胆碱酯酶含量较取食其他两种低酚含量棉花

表 5 甜菜夜蛾取食 3 种棉花品种不同时间体内保护酶和解毒酶活性的变化(平均值±标准差)^{a)}

为害时间/h	保护酶和解毒酶	棉花品种		
		M9101	HZ401	ZMS13
1	羧酸酯酶($A_{600}/\text{mg Prot}/\text{min}$)	$0.42 \pm 0.01^{c, B}$	$0.61 \pm 0.02^{b, BC}$	$0.80 \pm 0.02^{a, B}$
	乙酰胆碱酯酶($\text{U}/\text{mg prot}$)	$0.63 \pm 0.02^{c, AB}$	$0.71 \pm 0.02^{b, B}$	$0.88 \pm 0.02^{a, B}$
	过氧化氢酶($\text{U}/\text{g prot}$)	$139 \pm 2^{c, A}$	$117 \pm 3^{b, A}$	$100 \pm 3^{a, A}$
	总超氧化物歧化酶($\text{U}/\text{mg prot}$)	$115 \pm 3^{c, B}$	$102 \pm 1^{b, C}$	$100 \pm 3^{a, C}$
	过氧化物酶	$42.8 \pm 1.0^{c, C}$	$34.0 \pm 0.9^{b, C}$	$23.5 \pm 1.6^{a, C}$
4	羧酸酯酶($A_{600}/\text{mg Prot}/\text{min}$)	$0.45 \pm 0.02^{c, AB}$	$0.60 \pm 0.01^{b, C}$	$0.83 \pm 0.02^{a, AB}$
	乙酰胆碱酯酶($\text{U}/\text{mg prot}$)	$0.62 \pm 0.02^{c, B}$	$0.72 \pm 0.02^{b, B}$	$0.90 \pm 0.03^{a, AB}$
	过氧化氢酶($\text{U}/\text{g prot}$)	$139 \pm 4^{c, A}$	$113 \pm 2^{b, B}$	$99.0 \pm 1.4^{a, A}$
	总超氧化物歧化酶($\text{U}/\text{mg prot}$)	$117 \pm 1^{c, B}$	$104 \pm 2^{b, BC}$	$90.8 \pm 3.2^{a, B}$
	过氧化物酶	$43.4 \pm 1.2^{c, BC}$	$34.8 \pm 1.0^{b, BC}$	$26.3 \pm 0.9^{a, B}$
6	羧酸酯酶($A_{600}/\text{mg Prot}/\text{min}$)	$0.47 \pm 0.01^{c, A}$	$0.63 \pm 0.02^{b, B}$	$0.84 \pm 0.01^{a, A}$
	乙酰胆碱酯酶($\text{U}/\text{mg prot}$)	$0.63 \pm 0.02^{c, AB}$	$0.73 \pm 0.01^{b, AB}$	$0.91 \pm 0.02^{a, AB}$
	过氧化氢酶($\text{U}/\text{g prot}$)	$141 \pm 1^{c, A}$	$111 \pm 1^{b, BC}$	$97.7 \pm 3.9^{a, A}$
	总超氧化物歧化酶($\text{U}/\text{mg prot}$)	$121 \pm 1^{c, A}$	$106 \pm 1^{b, B}$	$93.4 \pm 2.2^{a, B}$
	过氧化物酶	$45.3 \pm 1.4^{c, AB}$	$35.9 \pm 1.4^{b, AB}$	$26.7 \pm 1.8^{a, B}$
24	羧酸酯酶($A_{600}/\text{mg Prot}/\text{min}$)	$0.46 \pm 0.03^{c, A}$	$0.67 \pm 0.01^{b, A}$	$0.84 \pm 0.02^{a, A}$
	乙酰胆碱酯酶 AChE($\text{U}/\text{mg prot}$)	$0.66 \pm 0.01^{c, A}$	$0.76 \pm 0.04^{b, A}$	$0.92 \pm 0.02^{a, A}$
	过氧化氢酶($\text{U}/\text{g prot}$)	$137 \pm 2^{c, A}$	$108 \pm 2^{b, C}$	$96.3 \pm 3.1^{a, A}$
	总超氧化物歧化酶($\text{U}/\text{mg prot}$)	$123 \pm 3^{c, A}$	$111 \pm 3^{b, A}$	$98.7 \pm 2.4^{a, A}$
	过氧化物酶	$46.8 \pm 1.5^{c, A}$	$37.5 \pm 0.9^{b, A}$	$30.1 \pm 2.2^{a, A}$

a) 同一行中, 不同小写字母表示不同棉花品种间进行横向比较(最小显著性检验, $P<0.05, df=2, 9$); 同一列中, 不同大写字母表示不同为害时间的保护酶和解毒酶间进行纵向比较(最小显著性检验, $P<0.05, df=3, 12$)

ZMS13 和 HZ401 出现了显著降低. 甜菜夜蛾取食中棉酚含量棉花 HZ401 品种 24 h 后, 幼虫体内的羧酸酯酶含量显著高于其取食 1, 4 和 6 h 后的羧酸酯酶 ($F=9.45$, $df=3,12$, $P=0.0017$)和乙酰胆碱酯酶($F=4.06$, $df=3,12$, $P=0.0332$)含量(表 5).

甜菜夜蛾取食高棉酚含量棉花 M9101 品种 1($F=190.44$, $df=2,9$, $P=0.0001$), 4($F=273.88$, $df=2,9$, $P=0.0001$), 6($F=321.62$, $df=2,9$, $P=0.0001$)和 24 h($F=263.31$, $df=2,9$, $P=0.0001$)后, 幼虫体内的过氧化氢酶含量较取食其他两种低酚含量棉花 ZMS13 和 HZ401 出现了显著增加. 甜菜夜蛾取食中棉酚含量棉花 HZ401 品种 1 h 后, 幼虫体内的过氧化氢酶含量显著高于其取食 4, 6 和 24 h 后的过氧化氢酶含量 ($F=10.35$, $df=3,12$, $P=0.0012$).

甜菜夜蛾取食高棉酚含量棉花 M9101 品种 1(总超氧化物歧化酶: $F=264.15$, $df=2,9$, $P=0.0001$; 过氧化物酶: $F=271.97$, $df=2,9$, $P=0.0001$), 4(总超氧化物歧化酶: $F=140.78$, $df=2,9$, $P=0.0001$; 过氧化物酶: $F=275.84$, $df=2,9$, $P=0.0001$), 6(总超氧化物歧化酶: $F=326.11$, $df=2,9$, $P=0.0001$; 过氧化物酶: $F=148.31$, $df=2,9$, $P=0.0001$)和 24 h(总超氧化物歧化酶: $F=94.92$, $df=2,9$, $P=0.0001$; 过氧化物酶: $F=106.57$, $df=2,9$, $P=0.0001$)后, 幼虫体内的总超氧化物歧化酶和过氧化物酶含量较取食其他两种低酚含量棉花 ZMS13 和 HZ401 出现了显著增加. 甜菜夜蛾取食 M9101(总超氧化物歧化酶: $F=11.99$, $df=3,12$, $P=0.0006$; 过氧化物酶: $F=8.19$, $df=3,12$, $P=0.0031$), HZ401(总超氧化物歧化酶: $F=20.12$, $df=3,12$, $P=0.0001$; 过氧化物酶: $F=7.80$, $df=3,12$, $P=0.0037$)和 ZMS13(总超氧化物歧化酶: $F=19.50$, $df=3,12$, $P=0.01$; 过氧化物酶: $F=10.77$, $df=3,12$, $P=0.001$)24 h 后, 幼虫体内的总超氧化物歧化酶含量显著高于其取食 1, 4 和 6 h 后的总超氧化物歧化酶含量.

3 讨论

利用植物抗虫性对害虫进行防治是当代害虫综合治理中的一个重要方法^[19,25]. 植物次生代谢化学物质是植物抗虫性的重要生化基础. 棉花中的棉酚植物中防御植食性害虫的一个重要的内源抗虫防御化学物质, 在害虫抗性中发挥重要的作用. Botter

等人^[12]发现, 蚜虫对缺少棉酚含量的棉花品种的为害时间增长. Gao等人^[10]发现, 饲喂龟纹瓢虫在高棉酚含量M9101 上生长的蚜虫比饲喂在较低棉酚含量上生长的蚜虫的幼虫历期短, 雌性成虫的体重较大. Du等人^[14]报道, 取食高棉酚含量的棉花品种比取食较低棉酚含量的棉花品种的棉蚜的成虫寿命短、生殖力降低, 棉蚜的蛹期与棉花的氮和棉酚含量成正比相关, 棉蚜的成虫寿命和生殖力与棉酚含量成负相关^[10]. 在本研究中, 在相同为害时间下, 甜菜夜蛾取食高棉酚含量的M9101 棉花后, 体内的游离脂肪酸较其他两种较低棉酚含量棉花相比出现了显著的降低, 如取食高棉酚含量的M9101 棉花 6 h后, 甜菜夜蛾体内的游离脂肪酸显著低于其他两种低棉酚含量棉花($P<0.05$). 然而, Gao等人^[10]发现高棉酚含量的棉花品种M9101 可以增加棉蚜体内的游离脂肪酸含量. 这些结果表明, 与取食韧皮部汁液的蚜虫相比, 甜菜夜蛾对棉株内的次生物质更敏感. 咀嚼性昆虫(如本研究中的甜菜夜蛾)和刺吸式昆虫(如棉蚜)对植物体内次生物质(如本研究中的棉酚)数量/质量变化作出的响应也不尽相同.

大多数植食性动物受其寄主植物的生理和营养状态(如寄主体内的次级代谢产物)的影响. 植食性昆虫体内的保护酶和解毒酶是对植物次级代谢物的重要防御^[19]. 乙酰胆碱酯酶和超氧化物歧化酶是植食性昆虫体内的两种重要保护酶和解毒酶. 乙酰胆碱酯酶是神经递质乙酰胆碱的水解酶, 直接参与生物神经功能调节^[26]. 超氧化物歧化酶为植食性昆虫体内氧化和反氧化作用有重要的平衡作用, 并保护昆虫体内的细胞远离消极环境条件的影响.

本实验中, 甜菜夜蛾取食高棉酚含量棉花美 9101 品种 1, 4, 6 和 24 h 后, 其体内的乙酰胆碱酯酶活性较取食低棉酚含量棉花中棉所 13 号品种分别降低了 39.99%, 45.48%, 44.61%和 40.04%; 然而, 甜菜夜蛾取食高棉酚含量棉花美 9101 品种 1, 4, 6 和 24 h 后, 其体内的超氧化物歧化酶活性较取食中棉所 13 号分别增高了 34.55%, 28.86%, 29.08%和 24.87%. 上述结果表明, 高酚棉花品种较低酚品种可显著提高甜菜夜蛾体内的总超氧化物歧化酶活性, 然而, 高酚棉花品种较低酚品种可显著降低甜菜夜蛾体内的乙

酰胆碱酯酶活性. 不同棉花品种内源次生防御化学物质的不同, 棉酚与甜菜夜蛾体内的保护酶和解毒酶显著相关, 这可能造成在持续取食压力下, 甜菜夜蛾对内源次生防御化学物质——棉酚产生耐受性或抗性.

本实验中, 甜菜夜蛾品种显著地影响了甜菜夜蛾体内除了淀粉酶以外的消化酶、保护酶和解毒酶. 上述结果表明, 不同棉花品种内的不同棉酚水平对显著影响甜菜夜蛾体内的酶活性. 棉花品种和甜菜夜蛾为害时间的交互作用可显著影响甜菜夜蛾体内的羧酸酯酶($P < 0.05$)和过氧化氢酶活性($P < 0.05$), 然而, 棉花品种和甜菜夜蛾为害时间的交互作用对甜

菜夜蛾体内的其他酶活性无影响($P > 0.05$). 这些结果表明, 保护酶和解毒酶对不同棉花品种和甜菜夜蛾不同为害时间的响应也存在着极大的差异.

本研究例证了内源次生防御化学物质——棉酚对甜菜夜蛾酶活性的直接影响, 并明确了甜菜夜蛾体内酶活性在不同为害时间对棉酚的响应. 测定甜菜夜蛾体内酶活性对棉酚的时间分配响应, 可以客观评估植食性昆虫在植物次生化学物质的持续选择压力下的耐受性机制. 因此, 制定和实施有效的害虫耐受性管理和抗性管理计划可视为害虫综合防治策略(害虫综合管理 IPM 和抗性综合管理 IRM)的重要组成部分.

参考文献

- Ferry N, Edwards M G, Gatehouse J, et al. Transgenic plants for insect pest control: a forward looking scientific perspective. *Transgenic Res*, 2006, 15: 13—19 [DOI](#)
- Burris E, Graves J B, Leonard B R, et al. Beet armyworm(Lepidoptera: Noctuidae) in northeast Louisiana: observations on an uncommon insect pest. *Florida Entomol*, 1994, 77: 454—459 [DOI](#)
- Mascarenhas V J, Leonard B R, Burris E, et al. Beet armyworm(Lepidoptera: Noctuidae) control on cotton in Louisiana. *Florida Entomol*, 1996, 79: 336—343 [DOI](#)
- Mascarenhas V J, Graves J B, Leonard B R, et al. Susceptibility of field populations of beet armyworm(Lepidoptera: Noctuidae) to commercial and experimental insecticides. *J Econ Entomol*, 1998, 91: 827—833
- Greenberg S M, Showler A T, Liu T X. Effects of neem-based insecticides on beet armyworm(Lepidoptera: Noctuidae). *Insect Sci*, 2005, 12: 17—23
- Ascher K R S. Nonconventional insecticidal effects of pesticides available from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Arch Insect Biochem Physiol*, 1993, 22: 433—449 [DOI](#)
- Haseeb M, Liu T X, Jones W A. Effects of selected insecticides on *Cotesia plutellae* endoparasitoid of *Plutella xylostella*. *BioControl*, 2004, 49: 33—46 [DOI](#)
- Schmutterer H. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree. *Annu Rev Entomol*, 1990, 35: 271—298 [DOI](#)
- Wu G., Chen F J, Ge F, et al. Transgenic *Bacillus thuringiensis*(Bt) cotton allomone response to cotton aphid, *Aphis gossypii*(Glover) in a Closed-Dynamics CO₂ Chamber(CDCC). *J Plant Res*, 2007, 120: 679—685 [DOI](#)
- Gao F, Zhu S R, Du L, et al. Interactive effects of elevated CO₂ and cotton cultivar on tri-trophic interaction of *Gossypium hirsutum*, *Aphis gossypii*, and *Propylaea japonica*. *Environ Entomol*, 2008, 37: 29—37 [DOI](#)
- Zhou M X. The insect resistance of cotton cultivars to main pests. In: Principles and applications of crop resistance. Beijing: Press of Beijing Agricultural University, 1991
- Bottger G T, Sheehan E T, Lukefahr M J. Relation of gossypol content of cotton plants to insect resistance. *J Econ Entomol*, 1964, 57: 283—285
- Meng L, Li B P. Studies on the aphid resistance of cotton cultivars in Xinjiang province and its mechanisms. *Chin Cotton*, 1999, 26: 8—10
- Du L, Ge F, Zhu S R. Effect of Cotton Cultivar on Development and Reproduction of *Aphis gossypii*(Homoptera: Aphididae) and its Predator *Propylaea japonica*(Coleoptera: Coccinellidae). *J Econ Entomol*, 2004, 97: 1278—1283 [DOI](#)
- 陈巨莲, 孙京瑞, 丁红建, 等. 主要抗蚜小麦品种(系)的抗性类型及其生化抗性机制. *昆虫学报*, 1997, 40: 190—195
- 陈建新, 宋敦伦, 采长群, 等. 小麦抗禾缢管蚜的生化研究. *昆虫学报*, 1997, 40: 186—189
- 石宏, 张立富, 花保祯, 等. 二级营养级水平上Bt 蛋白的杀虫活性. *科学通报*, 2006, 51: 946—951
- Wu G, Marvin K H, Guo J Y, et al. Response of multiple generations of beet armyworm, *Spodoptera exigua*(Hübner), feeding on trans-

- genic Bt cotton. *J Appl Entomol*, 2008, 133: 90—100[DOI]
- 19 Cai Q N, Zhang Q W, Cheo M. Contribution of indole alkaloids to *Sitobion avenae*(F.) resistance in wheat. *J Appl Entomol*, 2004, 128: 517—521[DOI]
- 20 彭梅, 邓新平. 甜菜夜蛾不同龄期幼虫药剂敏感性及其酶活性差异. *西南农业大学学报*, 2005, 27: 173—175
- 21 何玉仙, 王长方, 陈峰, 等. 杀虫剂处理对甜菜夜蛾幼虫体内酶活性的影响. *江西农业大学学报*, 2003, 25: 896—899
- 22 Van Asperen K. A study of house fly esterase by means of a sensitive colourimetric method. *J Insect Physiol*, 1962, 8: 401—416[DOI]
- 23 Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein binding. *Anal Biochem*, 1976, 72: 248—254[DOI]
- 24 SAS Institute Inc. SAS/STAT Software: Changes and Enhancements through Release 6.12, Cary, NC: SAS Institute Inc. 1996
- 25 Wu G, Chen F J, Ge F. Impacts of early-season square abscission on the growth and yield of transgenic Bt cotton under elevated CO₂. *Field Crops Res*, 2007, 102: 239—243[DOI]
- 26 Cheng W X, Wang J J, Ding W, et al. Inhibition kinetics on carboxylesterase and acetylcholinesterase of *Liposcelis bostrychophila* and *Liposcelis entomophila*(Psocop., Liposcelididae) of two insecticides. *J Appl Entomol*, 2004, 128: 292—297[DOI]