



武磊, 李路莎, 王立颖, 袁郁斐, 陈敏. 没食子酸对美国白蛾幼虫营养效应及解毒酶活性的影响 [J]. 环境昆虫学报, 2020, 42 (2): 471–479.

没食子酸对美国白蛾幼虫营养效应及解毒酶活性的影响

武磊¹, 李路莎¹, 王立颖², 袁郁斐¹, 陈敏^{1*}

(1. 北京林业大学林木有害生物防治北京市重点实验室, 北京 100083; 2. 承德市围场满族蒙古族自治县林业局, 河北承德 068450)

摘要: 美国白蛾是我国重大外来入侵害虫, 寄主范围十分广泛。酚类物质是最广泛的植物次生代谢物之一, 在植物抵御昆虫取食的化学防御中具有重要作用。本研究通过人工饲料添加没食子酸的方法, 探究不同浓度的没食子酸对美国白蛾幼虫的营养效应及解毒酶和乙酰胆碱酯酶活性的影响。结果表明, 各浓度 (1.0%、1.5%、2.0%、2.5%、3.0%) 没食子酸对美国白蛾 4 龄幼虫的近似消化率、食物利用率、相对取食量和相对生长率均具有显著影响 ($P < 0.05$), 近似消化率和相对取食量不同程度下降, 食物利用率和相对生长率则不同程度上升。不同浓度的没食子酸处理对美国白蛾幼虫的乙酰胆碱酯酶、羧酸酯酶、谷胱甘肽 S-转移酶和细胞色素 P450 的活性均具有显著影响 ($P < 0.05$)。1.0% 没食子酸作用时间不同, 美国白蛾 4 龄幼虫的乙酰胆碱酯酶、羧酸酯酶、谷胱甘肽 S-转移酶和细胞色素 P450 的活性差异显著 ($P < 0.05$)。没食子酸能够始终诱导细胞色素 P450 的活性, 而羧酸酯酶的活性却受到抑制。不同浓度的没食子酸对乙酰胆碱酯酶作用总体上不明显, 但较低浓度时 (1.0%) 对乙酰胆碱酯酶活性却随处理时间延长而抑制作用加强。较低浓度 (1.0% ~ 1.5%) 的没食子酸对谷胱甘肽 S-转移酶的活性有一定诱导作用, 但随着没食子酸浓度提高谷胱甘肽 S-转移酶的活性却受到一定程度的抑制。没食子酸能抑制美国白蛾幼虫的取食, 并且对解毒酶和乙酰胆碱酯酶的活性表现出一定的时间效应和剂量效应, 表明美国白蛾幼虫可能通过调节食物利用和解毒代谢等多种途径降低没食子酸的毒害作用, 从而对含没食子酸的寄主植物产生适应。

关键词: 美国白蛾; 没食子酸; 营养效应; 解毒酶; 乙酰胆碱酯酶

中图分类号: Q965; S433.4

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2020) 02-0471-09

Effects of gallic acid on the nutritional efficiency and detoxification enzymes in *Hyphantria cunea* larvae

WU Lei¹, LI Lu-Sha¹, WANG Li-Ying², YUAN Yu-Fei¹, CHEN Min^{1*} (1. Key Laboratory of Beijing for Control to Forest Pest, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; 2. Forestry Bureau of Weichang Manchu and Mongolian Autonomous County, Chengde 068450, Hebei Province, China)

Abstract: *Hyphantria cunea* is a major invasive pest in China and has a wide range of hosts. Phenolics is a kind of general secondary metabolites in plants and play an important role in chemical defense against phytophagous insects. In this study, the method of adding gallic acid to artificial diet was used to analyze the influence of gallic acid on the nutritional efficiency and the activities of acetylcholinesterase and detoxification enzymes of *H. cunea* larvae. The results indicated that the nutritional efficiency (approximate digestibility, efficiency of conversion of ingested food, relative consumption rate, relative growth rate) of

基金项目: 国家科技重大专项 (2018ZX08020002); 国家重点研发计划 (2018YFC1200400)

作者简介: 武磊, 男, 1991 年生, 河北衡水人, 硕士研究生, 研究方向为普通昆虫学, E-mail: 2420101965@qq.com

* 通讯作者 Author for correspondence: 陈敏, 博士, 副教授, 主要研究方向为森林昆虫学, E-mail: minch@bjfu.edu.cn

收稿日期 Received: 2019-02-26; 接受日期 Accepted: 2019-04-19

H. cunea larvae were significantly impacted by tested concentrations of gallic acid (1.0% ,1.5% ,2.0% ,2.5% ,3.0%) ($P < 0.05$). Approximate digestibility and relative consumption rate of *H. cunea* larvae were descended while its efficiency of conversion of ingested food and relative growth rate were ascended with treatment of gallic acid. The activities of acetylcholinesterase , carboxylesterase , glutathione-S-transferase and cytochrome P450 significantly affected by gallic acid with different concentrations ($P < 0.05$). Four enzymes activities of *H. cunea* were also significantly affected by 1.0% gallic acid with different treatment time ($P < 0.05$). Gallic acid could always induce the activity of cytochrome P450. However ,the activity of carboxylesterase was inhibited by gallic acid. Different concentrations of gallic acid have no significant effect on acetylcholinesterase. Instead , the inhibition on the activity of acetylcholinesterase caused by 1% gallic acid was gradually enhanced as treatment time went on. Lower concentrations (1.0% ~ 1.5%) of gallic acid had a certain induction on the activity of glutathione S-transferase. However ,the activity of glutathione S-transferase was inhibited with gallic acid concentration increasing. The feeding of *H. cunea* larvae was inhibited by gallic acid while the effects of gallic acid on the activities of detoxification enzymes and acetylcholinesterase of *H. cunea* larvae were depended on dosage and time. It indicated that the larvae of *H. cunea* could reduce the toxic effect of gallic acid by regulating its food utilization and detoxification metabolism ,thereby adapt the defense mechanism of host plants.

Key words: *Hyphantria cunea*; gallic acid; nutritional efficiency; acetylcholinesterase; detoxification enzymes

在植物-昆虫互作过程中,一方面植物为植食性昆虫的生长发育提供营养需求,同时,植物通过多种方式抵抗昆虫的取食(Rani and Jyothsna, 2010; War *et al.*, 2011a; 2011b)。其中,次生代谢物在植物抵御昆虫的取食中发挥着重要的作用。酚类是最广泛的植物次生代谢物之一,主要包括植物多酚、黄酮类、萜醌、苯醌和木质素等(张力平等, 2005; 张雅静, 2014)。次生代谢物通常对昆虫的取食、生长发育和繁殖等生命活动产生不利影响,甚至具有毒杀的效果(王亚军等, 2017)。

在长期的进化过程中,昆虫同样形成了行为、生理和生化等多种防御机制来抵御这些有毒次生物质对其造成的影响(彭露等, 2010)。昆虫在遭受植物次生代谢物质的毒害时,能够利用体内自身的解毒酶系进行解毒排毒(王瑞龙等, 2012),如羧酸酯酶(CarE)、谷胱甘肽S-转移酶(GSTs)和昆虫细胞色素P450(P450)等。此外,乙酰胆碱酯酶(AchE)在植物-昆虫互作过程中发挥重要的作用(王莹, 2008),主要参与昆虫突触传导,是杀虫剂作用的重要靶点(Van *et al.*, 2005; 王瑞龙等, 2012)。生物化学及分子水平研究证实,昆虫对植物次生物质的代谢能力与昆虫的寄主范围密切相关(陈澄宇等, 2015)。如杂食性昆虫棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 的 CYP6B8 能够代谢

花椒毒素、槲皮素、黄酮、绿原酸、吲哚3-甲醇和芸香苷等多种植物次生物质(Li *et al.*, 2004),而寡食性昆虫北美黑凤蝶 *Papilio polyxenes* 的 CYP6B1 仅能够有效代谢线型和角型呋喃香豆素,对黄酮、 α -萜黄酮的代谢能力较弱(Wen *et al.*, 2003)。这表明与寡食性昆虫相比,杂食性昆虫具有更为强大的解毒酶体系(Ramsey *et al.*, 2010)。

美国白蛾 *Hyphantria cunea* 原产北美洲,属于鳞翅目 Lepidoptera 灯蛾科 Arctiidae (Sullivan *et al.*, 2011)。1979 年在我国辽宁省丹东市首次发现美国白蛾(Yang *et al.*, 2006; Chen *et al.*, 2014),目前已经扩散至 11 个省(区、市)共计 572 个县级行政区(国家林业局 2018 年第 3 号公告)。美国白蛾寄主非常广泛,世界范围内寄主植物多达 630 余种(Sullivan and Ozman-Sullivan, 2012),中国地区的寄主植物超过 300 种(王凤琴和桑成武, 2008)。该害虫被列为中国最重要的森林检疫性有害生物之一(Zhang *et al.*, 2016)。目前关于美国白蛾的生物生态学、种群遗传学、性信息素开发及防治技术等方面已开展广泛研究(Gomi, 2007; Kim *et al.*, 2011; Kiyota *et al.*, 2011; 刘颀等, 2012; Zibae *et al.*, 2013; Cao *et al.*, 2016)。但关于该害虫对环境和广泛寄主植物的适应机制的研究却鲜有涉及。前期研究发现,美国白蛾幼虫对不同寄主植物存在取食选择和营

养效应差异, 取食不同寄主植物的美国白蛾幼虫 AchE、GSTs、CarE 和 P450 的活性存在显著差异 (李路莎等, 2018)。由于不同寄主植物所含次生代谢物的种类以及各类次生物质的含量各异, 难以明确单一类型的次生物质对美国白蛾生理代谢的影响。

没食子酸 gallic acid 是一种天然有机酚酸, 具有多酚类和酸类物质的通性 (Kim *et al.*, 2006; Kang *et al.*, 2008; Giftson *et al.*, 2009), 是植物防御植食性昆虫的一种重要的抗虫次生代谢物 (Coruh and Ercisli, 2010; 黄敏燕和李雪峰, 2018), 广泛存在于大叶桉、杨、桑等常见植物的叶片中 (柯发敏和张开莲, 2011; 理永霞等, 2011; 丁双华, 2011)。陈巨莲等 (2003) 研究发现没食子酸对麦长管蚜 *Sitobion avenae* 的存活、生长和发育具有明显的抑制作用, 同时还对蔗糖酶、CarE 和 GSTs 等多种解毒酶的活力表现出不同的作用效果。没食子酸能够显著抑制青杨天牛 *Saperda populnea* 幼虫体内 CarE 的活性, 减弱 CarE 的解毒功能 (谢兴, 2010), 但没食子酸却能够诱导活化斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 体内 CarE 和 GSTs 等多种解毒酶的活性, 参与解毒代谢棉花次生代谢物 (Rain *et al.*, 2013)。本研究拟通过在美国白蛾人工饲料中添加没食子酸的方法, 分析没食子酸对美国白蛾的营养效应及对解毒酶和乙酰胆碱酯酶活性的影响, 以探究美国白蛾对寄主植物中广泛存在的该类次生代谢物的解毒代谢能力和生理响应模式。该研究结果将对揭示美国白蛾的寄主适应机制提供基础资料, 为进一步完善美国白蛾防控体系提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 没食子酸人工饲料的配制及试虫的饲养

先用蒸馏水配制浓度为 4% 没食子酸溶液 (CAS 编号: 149-91-7, AR, 纯度: 99.0%, 国药集团), 70℃ 水浴加热使其充分溶解。参照曹利军等 (2014) 的方法配制美国白蛾人工饲料, 按比例将一定体积的没食子酸溶液加入到人工饲料中搅拌均匀, 分别配制成含没食子酸 1.0%、1.5%、2.0%、2.5% 和 3.0% 的美国白蛾人工饲料。没食子酸浓度梯度的设定参照李路莎等 (2018) 测定的 8 种寄主植物总酚含量 (16.00 ~ 55.85 mg/g) 以及相关文献中没食子酸人工饲料的浓度设置范

围 (王怡, 2010; 黄敏燕和李雪峰, 2018)。

美国白蛾幼虫于室内用人工饲料 (曹利军等, 2014) 饲养至 4 龄, 选取生长状况一致的 4 龄幼虫作为供试虫源。饲养条件: 温度 25℃ ± 1℃, 相对湿度 70% ~ 80%, 光周期 12L:12D。

1.2 营养指标的测定

参照苏超等 (2013) 的方法, 分别用 1.0%、1.5%、2.0%、2.5% 和 3.0% 的没食子酸人工饲料饲养美国白蛾幼虫。先将幼虫饥饿处理 12 h 以排空粪便, 称取幼虫及人工饲料鲜重, 用含没食子酸的人工饲料饲养美国白蛾幼虫 48 h, 再次称取幼虫及人工饲料的重量, 继续饥饿处理 12 h, 烘干后称取幼虫 (CGZ₂)、虫粪 (F) 及饲料 (YGZ₂) 重量。另外, 饲养前称取人工饲料和饥饿处理的 4 龄幼虫鲜重, 将与饲养用的饲料和试虫等重的饲料和试虫烘干至恒重, 称重记作取食前人工饲料干重 (YGZ₁) 和取食前幼虫干重 (CGZ₁)。以不添加没食子酸的人工饲料作为对照组 (CK)。每个培养杯接入 5 头幼虫, 试验重复 3 次。本试验共测定 4 个营养效应指标: 近似消化率 (approximate digestibility, AD)、食物利用率 (efficiency of conversion of ingested food, ECI)、相对取食量 (relative consumption, RCR) 和相对生长率 (relative growth rate, RGR) (浦名伟, 2007)。计算公式为: $AD(\%) = (I - F) / I \times 100$; $ECD(\%) = G / (I - F) \times 100$; $ECI(\%) = G / I \times 100$; $RCR(g/g \cdot d) = I / (B \times T)$; $RGR(g/g \cdot d) = G / (B \times T)$ 。式中, B: 试验期间幼虫的平均体重; F: 粪便干重; G: 虫体增重量; I: 幼虫的取食量; T 为试验天数。 $G = CGZ_2 - CGZ_1$; $B = (CGZ_1 + CGZ_2) / 2$; $I = YGZ_1 - YGZ_2$ 。

1.3 解毒酶和乙酰胆碱酯酶活性测定

1.3.1 酶提取液的制备

4 龄幼虫饥饿处理 12 h 后, 转移至含不同浓度没食子酸的人工饲料上饲养, 每个培养杯接 5 头幼虫作为 1 个重复, 每个浓度梯度共设 3 个重复, 即每个浓度共 15 头幼虫, 分 3 个培养杯饲喂。将饲养后的幼虫放入冰冷生理盐水 (0.86% NaCl) 中清洗, 除去杂质。虫体经滤纸拭干后称重, 放入 PE 管。量取 9 倍体重的冷生理盐水, 加入 PE 管。用研磨仪研磨虫体制成组织匀浆。4℃ 低温 (12 000 r/min) 离心 10 min, 取上清液作为酶提取液, 以不添加没食子酸的人工饲料饲养的美国白蛾 4 龄幼虫的酶提取液作为对照。

1.3.2 解毒酶及乙酰胆碱酯酶活性的测定

分别用 1.0%、1.5%、2.0%、2.5% 和 3.0% 的没食子酸人工饲料饲养美国白蛾幼虫 24 h 后, 分别测定 CarE、GSTs 和 P450 3 种解毒酶和 AchE 的活性。同时, 用浓度 1.0% 的没食子酸人工饲料饲养美国白蛾 4 龄幼虫不同时间 (12, 24, 36, 48 h, 60 h) 后, 测定 4 种酶的活性, 分析较低浓度的没食子酸对美国白蛾 4 龄幼虫解毒酶和 AchE 活性的影响。

总蛋白测定试剂盒 (编号 A045-3)、乙酰胆碱酯酶测定试剂盒 (编号 A024)、羧酸酯酶测定试剂盒 (编号 A024) 和谷胱甘肽 S-转移酶测定试剂盒 (编号 A004) 均购自南京建成生物, 昆虫细胞色素 P450 测定试剂盒 (编号 JL22832) 购自上海江莱生物有限公司。各种酶活性的测定步骤及计算方法具体参照试剂盒说明书。

1.4 数据处理

用 Excel 2016 统计及整理数据, 采用 SPSS 19.0 for Windows 的 one-way ANOVA 分析检验 4 个营养效应指标 (AD、ECI、RCR 和 RGR)、乙酰胆碱酯酶和解毒酶活性的均值及差异显著性 (Tukey's test, $P < 0.05$)。用 Origin 2018 对不同浓度和不同处理时间的美国白蛾幼虫的乙酰胆碱酯酶与解毒酶的活性进行作图。

2 结果与分析

2.1 没食子酸对美国白蛾的营养效应的影响

取食不同浓度没食子酸的人工饲料 48 h 后, 各处理试虫的 4 项营养指标统计结果如表 1。与对

照组相比, 不同浓度的没食子酸对美国白蛾幼虫的 AD、ECI、RCR 和 RGR 均产生显著影响 ($P < 0.05$) (表 1)。ECI 和 RGR 均不同程度的高于对照组。不同浓度没食子酸处理的美国白蛾幼虫的 AD 和 RCR 均低于对照组。

2.2 没食子酸对美国白蛾乙酰胆碱酯酶和解毒酶活性的影响

2.2.1 不同浓度没食子酸对美国白蛾 4 龄幼虫乙酰胆碱酯酶和解毒酶活性的影响

用 5 个浓度梯度 (1.0%、1.5%、2.0%、2.5% 和 3.0%) 的没食子酸人工饲料分别饲养美国白蛾 4 龄幼虫 24 h 后, AchE、CarE、GSTs 和 P450 的活性如图 1 所示。结果表明, 不同浓度的没食子酸对美国白蛾幼虫 AchE、CarE、GSTs 和 P450 的活性均有显著影响 ($P < 0.05$)。由图 1A 可见, 1.0% 没食子酸对美国白蛾幼虫 AchE 的活性具有一定抑制作用, 但随着没食子酸浓度提高 AchE 的活性上升, 随后又逐渐恢复到对照组的水平。浓度为 1.0% ~ 3.0% 的没食子酸处理的美国白蛾幼虫 CarE 的活性均显著低于对照组 (图 1B), 表明没食子酸对美国白蛾幼虫 CarE 的活性具有显著抑制作用。较低浓度 (1.0% ~ 1.5%) 的没食子酸对 GSTs 的活性有一定诱导作用, 但随着没食子酸浓度提高, GSTs 的活性却受到一定程度的抑制 (图 1C)。不同浓度的没食子酸处理的美国白蛾幼虫的 P450 活性始终高于对照组, 且在没食子酸浓度为 1.5% ~ 2.0% 时诱导作用最强, 表明没食子酸在供试浓度范围内均能诱导美国白蛾幼虫 P450 的活性 (图 1D)。

表 1 没食子酸人工饲料对美国白蛾 4 龄幼虫营养效应的影响

Table 1 Nutritional efficiency of the 4th instar larvae of *Hyphantria cunea* feeding on gallic acid diets

| 没食子酸含量 (%) Gallic acid | 近似消化率 (%) AD | 食物利用率 (%) ECI | 相对取食量 (g/g, d) RCR | 相对生长率 (g/g, d) RGR |
|---------------------------|-----------------|------------------|-----------------------|-----------------------|
| 0 (CK) | 0.666 ± 0.03 a | 0.060 ± 0.01 c | 0.144 ± 0.02 a | 0.138 ± 0.02 e |
| 1.0 | 0.591 ± 0.04 ab | 0.115 ± 0.01 bc | 0.095 ± 0.01 b | 0.214 ± 0.01 c |
| 1.5 | 0.302 ± 0.14 bc | 0.216 ± 0.04 a | 0.069 ± 0.01 bc | 0.321 ± 0.01 a |
| 2.0 | 0.128 ± 0.13 c | 0.189 ± 0.03 ab | 0.053 ± 0.01 c | 0.178 ± 0.00 d |
| 2.5 | 0.177 ± 0.09 c | 0.162 ± 0.02 ab | 0.074 ± 0.01 bc | 0.248 ± 0.01 b |
| 3.0 | 0.256 ± 0.09 c | 0.127 ± 0.02 bc | 0.060 ± 0.01 bc | 0.169 ± 0.00 d |

注: 表中数据为平均值 ± 标准误, 同一列数据后不同字母表示差异显著 (Tukey 氏检验, $P < 0.05$)。Note: Data in the table are mean ± SE and different letters following the data in a column show significant difference (Tukey's test, $P < 0.05$).

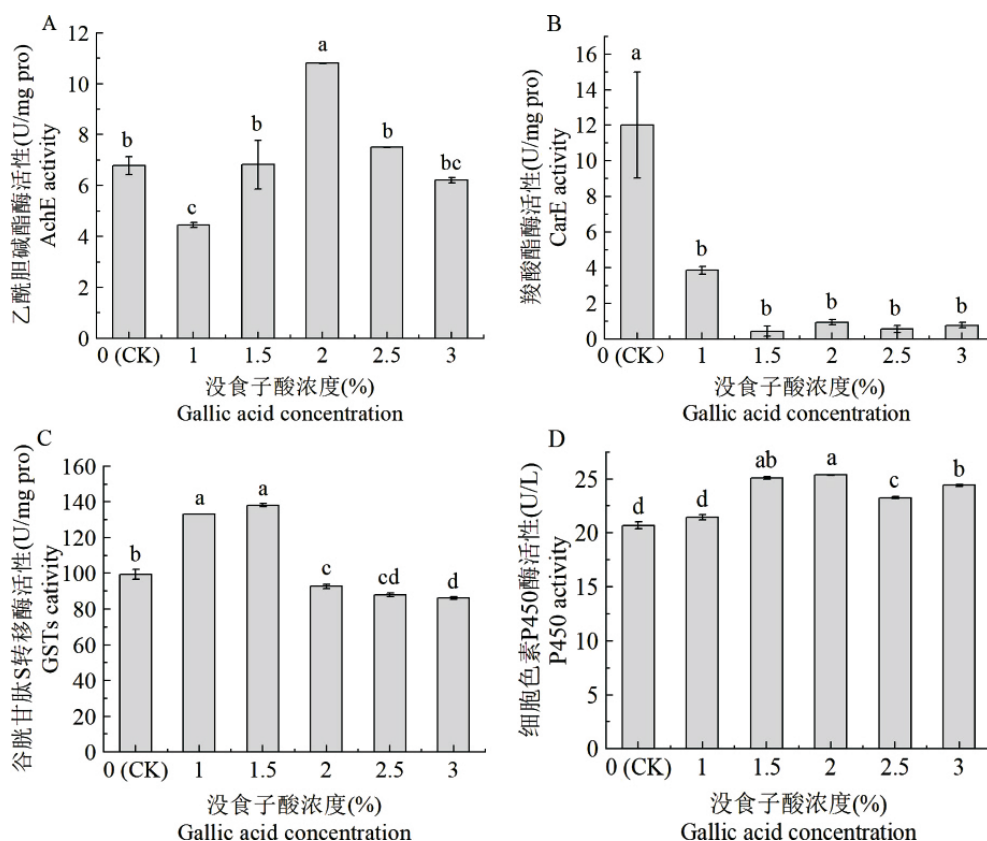


图1 取食不同浓度没食子酸饲料的美国白蛾4龄幼虫乙酰胆碱酯酶(A)和解毒酶(B-D)活性
Fig. 1 Activities of the acetylcholinesterase (A) and detoxification enzymes (B-D) of the 4th instar larvae of *Hyphantria cunea* feeding on different concentrations of gallic acid diets

注: 柱上不同小写字母代表不同浓度没食子酸处理的酶活性的差异显著性 (Tukey 氏检验, $P < 0.05$)。Note: Different letters above bars show significant difference of enzyme activities with different concentrations of gallic acid treatment (Tukey's test, $P < 0.05$).

2.2.2 1.0% 没食子酸不同处理时间对美国白蛾4龄幼虫乙酰胆碱酯酶和解毒酶活性的影响

用含1.0% 没食子酸的人工饲料饲养美国白蛾4龄幼虫, 分别测定饲养12、24、36、48、60 h试虫的乙酰胆碱酯酶和解毒酶的活性, 结果如图2所示。1.0% 没食子酸处理不同时间的美国白蛾4龄幼虫的AChE、CarE、GSTs和P450的活性变化均差异显著 ($P < 0.05$)。在处理时间范围内, 1.0% 浓度没食子酸处理的美国白蛾幼虫的AChE和CarE的活性低于对照 (图2A, 图2B), 表明AChE和CarE的活性始终受到没食子酸的抑制, 并且随着处理时间延长, 没食子酸对两种酶的活性抑制作用逐渐增强。总体上1.0% 没食子酸对美国白蛾GSTs的活性影响较小, 24 h之内, 处理组的GSTs的活性稍高于对照, 但24 h之后与对照组的GSTs活性相当 (图1C)。在处理时间范围内, 没食子酸处理的美国白蛾幼虫的P450活性始终高于

对照组 (图1D), 表明1.0% 没食子酸对P450的活性有持续稳定的诱导作用。可见, 没食子酸对不同解毒酶和乙酰胆碱酯酶活性的影响不同, 不同的解毒酶和乙酰胆碱酯酶对没食子酸的响应模式也不同。

3 结论与讨论

通过在美国白蛾人工饲料中添加不同浓度的没食子酸, 研究没食子酸对美国白蛾幼虫营养效应指标和解毒代谢相关酶系的影响, 以及不同酶类随着没食子酸浓度和作用时间变化的代谢响应模式。营养效应指标结果显示 (表1), 没食子酸的存在导致美国白蛾幼虫的近似消化率和相对取食量降低, 表明美国白蛾幼虫可能通过降低食物取食量和食物消化率以减少酚类次生代谢物质的毒害, 而通过提高食物的利用率以满足其生长发

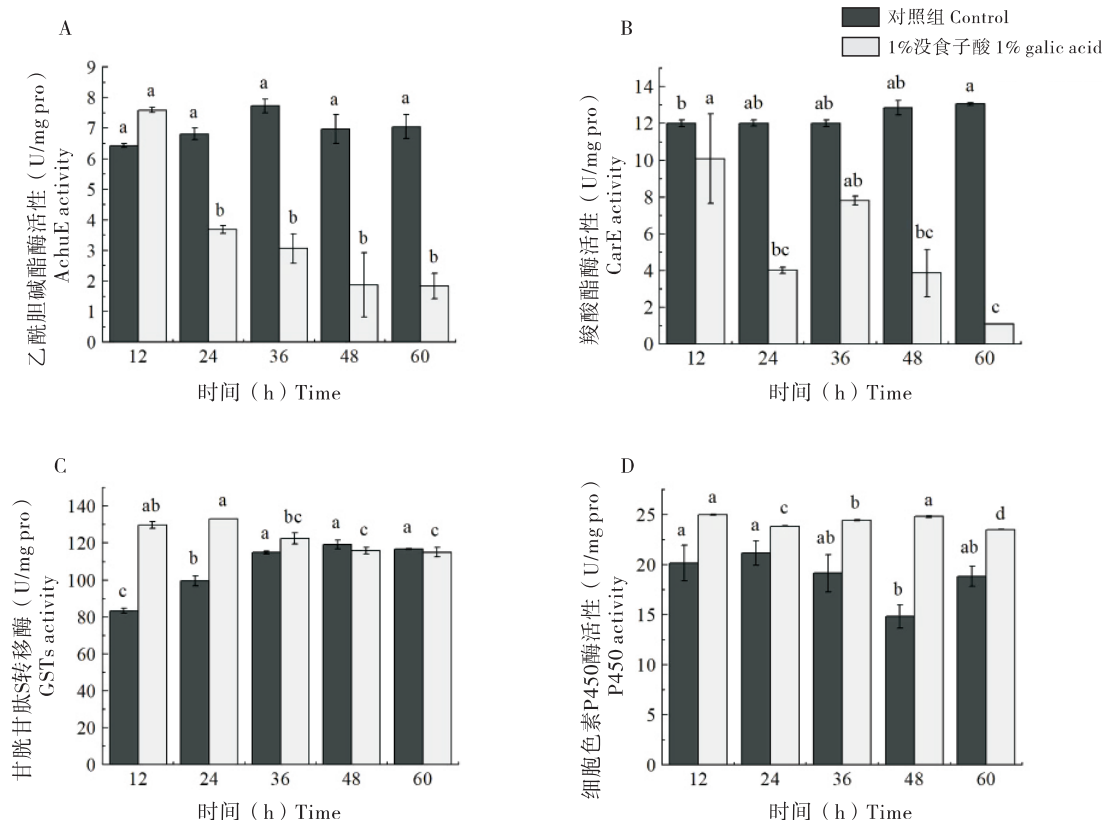


图2 1.0% 没食子酸人工饲料处理不同时间的美国白蛾 4 龄幼虫的乙酰胆碱酯酶 (A) 和解毒酶 (B-D) 活性

Fig. 2 Activities of the acetylcholinesterase (A) and detoxification enzymes (B-D) of the 4th instar larvae of

Hyphantria cunea treated by 1.0% gallic acid artificial diets for different time

注: 柱上不同小写字母代表 1.0% 没食子酸处理不同时间的酶活性的差异显著性 (Tukey 氏检验, $P < 0.05$)。Note: Different letters above bars show significant difference of enzyme activities with different treatment time of 1.0% gallic acid (Tukey's test, $P < 0.05$).

育所需的营养, 而且其相对生长量随着没食子酸浓度的增加有所提高, 表明一定浓度没食子酸的短期作用 (48 h) 并没有影响其生长, 反映美国白蛾幼虫对一定浓度没食子酸具有较强的生理适应能力。Hamamura 等 (1966) 用含没食子酸的人工饲料饲喂家蚕 *Bombyx mori* 幼虫发现幼虫生长速度加快的现象。棉铃虫取食添加烟碱的人工饲料后相对取食量和近似消化率均显著下降, 但食物利用率一定程度升高, 生长率并没有出现下降 (董钧峰等, 2002)。苏超等 (2013) 研究不同植物对三条橙灯蛾 *Lemyra alikangensis* 生长发育的影响, 结果表明天仙果饲喂的幼虫生长率与华东油柿饲喂的幼虫生长率相同, 但消化率显著低于华东油柿饲喂组, 而食物利用率显著高于华东油柿饲喂组。王桂花等 (2016) 研究 3 种植物对斜纹夜蛾的营养效应, 结果表明 3 种植物间处理的斜纹夜蛾幼虫生长率差异不明显, 但花生处理的幼

虫取食量和消化率低于香蕉和芒果处理的幼虫, 而食物利用率要高于其他两个植物处理的幼虫。昆虫取食植物量和对植物利用方面存在一定的补偿机制 (朱俊洪等, 2005), 昆虫通过内部的调节适应植物次生代谢物。美国白蛾幼虫提高食物利用效率可能是对取食量减少的一种补偿, 以保证自身获得足够的能量。

植物次生代谢物可以诱导昆虫乙酰胆碱酯酶及解毒酶系的活性, 提高昆虫的适应能力 (Cai *et al.*, 2005; Hlavica, 2011)。本研究结果表明, 没食子酸在供试浓度和作用时间范围内能够持续稳定地诱导美国白蛾幼虫 P450 的活性, 活化的 P450 在消化道和脂肪体等器官和组织内将次生代谢物降解为可溶或毒性更低的形式 (Feyereisen, 1999; Chung *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2014; Cui *et al.*, 2016), 从而赋予美国白蛾幼虫对该类次生代谢物的抗性。没食子酸能显著抑制美国白蛾幼

虫 CarE 的活性 (图 1B, 图 2B)。没食子酸浓度较低且处理时间较短时, 能够一定程度诱导美国白蛾幼虫 GSTs 的活性 (图 2C), 但随着没食子酸浓度升高, GSTs 的活性却受到一定程度抑制 (图 1C)。Zhou 等 (2016) 认为低浓度的次生代谢物诱导 GSTs 的活性是昆虫的一种应急适应, 高浓度次生代谢物产生的较强毒害作用会抑制酶活性。较低浓度的没食子酸 (1.0%) 随着处理时间的延长对 AchE 活性的抑制作用却加强 (图 2A)。上述结果表明, 没食子酸对美国白蛾幼虫不同的解毒酶和乙酰胆碱酯酶具有不同的诱导或抑制作用, 反映不同酶类在应对没食子酸的作用中具有不同的响应模式。王怡 (2016) 通过人工饲料添加没食子酸的方法研究次生代谢物没食子酸对玉米蚜 *Rhopalosiphum maidis* 解毒酶活性的影响, 同样发现没食子酸对不同酶作用效果不同, 没食子酸能够诱导玉米蚜 CarE 和 P450 的活性, 但不影响 AchE 的活性。用 1.0% 没食子酸处理斜纹夜蛾, 发现幼虫的 AchE 和 GSTs 活性均不同程度增加 (黄敏燕和李雪峰, 2018)。牟少飞等 (2006) 研究酚类物质槲皮素对 B 型烟粉虱 *Bemisia tabaci* 的 CarE 和 GSTs 活性影响时发现, 低浓度槲皮素短时间处理诱导 CarE 和 GSTs 活性, 但高浓度的次生代谢物会抑制酶活性的发挥。由此可见, 植物次生代谢物对昆虫解毒酶等酶系活性的诱导是一个复杂的过程, 不同酶之间相互协调完成对有毒次生代谢物的解毒代谢 (朱香镇等, 2018)。

本研究针对没食子酸对美国白蛾幼虫营养效应的影响和解毒酶等酶类的作用进行研究, 发现美国白蛾幼虫可通过调节对食物的利用和诱导活化解毒酶的活性, 增强对没食子酸的代谢能力, 从而对含没食子酸的寄主植物产生适应性。植物次生代谢物的短期作用, 会提高昆虫利用植物营养的效率和解毒酶类的活性。但有研究表明次生代谢物长期作用可能会对昆虫的生长发育、行为、繁殖等生命活动产生不利影响, 甚至具有毒杀的效果 (Delvas *et al.*, 2011; 王亚军等, 2017)。因此, 要全面认识美国白蛾幼虫对植物中没食子酸等次生代谢物化学防御的应对策略, 还需持续观察没食子酸对美国白蛾完整发育周期的各项生理生化和生长发育指标的影响, 甚至从基因水平探讨其分子调控机理, 从而揭示美国白蛾对寄主植物的适应机制。

参考文献 (References)

- Cai QN, Zhang QW, Cheo M. Contribution of indole alkaloids to *Sitobion avenae* (F.) resistance in wheat [J]. *Journal of Applied Entomology*, 2005, 128 (8): 517–521.
- Cao LJ, Wei SJ, Hoffmann AA, *et al.* Rapid genetic structuring of populations of the invasive fall webworm in relation to spatial expansion and control campaigns [J]. *Diversity and Distributions*, 2016, 22 (12): 1276–1287.
- Cao LJ, Yang F, Tang SY, *et al.* Development of an artificial diet for three lepidopteran insects [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2014, 51 (5): 1376–1386. [曹利军, 杨帆, 唐思莹, 等. 适合三种鳞翅目昆虫的一种人工饲料配方 [J]. 应用昆虫学报, 2014, 51 (5): 1376–1386]
- Chen C, Wei XT, Xiao HJ, *et al.* Diapause induction and termination in *Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera: Arctiinae) [J]. *PLoS ONE*, 2014, 9 (5): e98145.
- Chen CY, Kang ZJ, Shi XY, *et al.* Metabolic adaptation mechanisms of insects to plant secondary metabolites and their implications for insecticide resistance of insects [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2015, 58 (10): 1126–1139. [陈澄宇, 康志娇, 史雪岩, 等. 昆虫对植物次生物质的代谢适应机制及其对昆虫抗药性的意义 [J]. 昆虫学报, 2015, 58 (10): 1126–1139]
- Chen JL, Ni HX, Sun JR, *et al.* Effects of major secondary chemicals of wheat plants on enzyme activity in *Sitobion avenae* [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2003, 46 (2): 144–149. [陈巨莲, 倪汉祥, 孙京瑞, 等. 小麦几种主要次生物质对麦长管蚜几种酶活力的影响 [J]. 昆虫学报, 2003, 46 (2): 144–149]
- Chung H, Bogwitz MR, McCart C, *et al.* Cis-regulatory elements in the accord retrotransposon result in tissue-specific expression of the *Drosophila melanogaster* insecticide resistance gene *cyp6g1* [J]. *Genetics*, 2006, 175 (3): 1071–1077.
- Coruh S, Ercisli S. Interactions between galling insects and plant total phenolic contents in *Rosa canina* L. genotypes [J]. *Scientific Research and Essays*, 2010, 5 (5): 1935–1937.
- Cui S, Wang L, Ma L, *et al.* P450-mediated detoxification of botanicals in insects [J]. *Phytoparasitica*, 2016, 44 (5): 589–599.
- Delvas N, Bauce E, Labbe C, *et al.* Phenolic compounds that confer resistance to spruce budworm [J]. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 2011, 141 (1): 35–44.
- Ding SH. Study on the Extraction, Isolation of Polyphenols from Mulberry Leaves and its Activities [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2011. [丁双华, 桑叶多酚类物质分离提取及活性的初步研究 [D]. 杭州: 浙江工商大学, 2011]
- Dong JF, Zhang JH, Wang CZ. Effects of plant allelochemicals on nutritional utilization and detoxication enzyme activities in two *Helicoverpa* species [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2002, 45 (3): 296–300. [董钧锋, 张继红, 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]. 昆虫学报, 2002, 45 (3): 296–300]
- Feyereisen R. Insect P450 enzymes [J]. *Annual Review of Entomology*,

- 1999, 44 (44): 507–533.
- Giftson JS, Jayanthi S, Nalini N. Chemopreventive efficacy of gallic acid, an antioxidant and anticarcinogenic polyphenol, against 1, 2-dimethyl hydrazine induced rat colon carcinogenesis [J]. *Investigational New Drugs*, 2009, 28 (3): 251–259.
- Gomi T. Seasonal adaptations of the fall webworm *Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera: Arctiidae) following its invasion of Japan [J]. *Ecological Research*, 2007, 22 (6): 855–861.
- Hamamura Y, Kuwata K, Masuda H. Effect of gallic acid on the growth of the silkworm larvae *Bombyx mori* L. [J]. *Nature*, 1966, 212 (5068): 1386–1387.
- Hlavica P. Insect cytochromes P450: Topology of structural elements predicted to govern catalytic versatility [J]. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2011, 105 (10): 1354–1364.
- Huang MY, Li XF. Effects of plant secondary metabolite on detoxification enzyme activity of *Spodoptera litura* [J]. *Genomics and Applied Biology*, 2018, 37 (8): 3495–3502. [黄敏燕, 李雪峰. 植物次生物质对斜纹夜蛾解毒酶活性的影响 [J]. 基因组学与应用生物学, 2018, 37 (8): 3495–3502]
- Kang MS, Oh JS, Kang IC, et al. Inhibitory effect of methyl gallate and gallic acid on oral bacteria [J]. *Journal of Microbiology*, 2008, 46 (6): 744–750.
- Ke FM, Zhang KL. Research progress on gallic acid [J]. *Journal of Luzhou Medical College*, 2011, 34 (4): 440–442. [柯发敏, 张开莲. 没食子酸的研究进展 [J]. 泸州医学院学报, 2011, 34 (4): 440–442]
- Kim SH, Jun CD, Suk K, et al. Gallic acid inhibits histamine release and pro-inflammatory cytokine production in mast cells [J]. *Toxicological Sciences*, 2006, 91 (1): 123–131.
- Kim HJ, Kwon YM, Kim YI, et al. Molecular cloning and characterization of the STAT gene in *Hyphantria cunea* haemocytes [J]. *Insect Molecular Biology*, 2011, 20 (6): 723–732.
- Kiyota R, Arakawa M, Yamakawa R, et al. Biosynthetic pathways of the sex pheromone components and substrate selectivity of the oxidation enzymes working in pheromone glands of the fall webworm, *Hyphantria cunea* [J]. *Insect Biochemistry & Molecular Biology*, 2011, 41 (6): 362–369.
- Li LS, Yuan YF, Wu L, et al. Effects of host plants on the feeding behavior and detoxification enzyme activities in *Hyphantria cunea* (Lepidoptera: Arctiidae) larvae [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2018, 61 (2): 232–239. [李路莎, 袁郁斐, 武磊, 等. 不同寄主植物对美国白蛾幼虫取食行为及解毒酶活性的影响 [J]. 昆虫学报, 2018, 61 (2): 232–239]
- Li X, Baudry J, Berenbaum MR, et al. Structural and functional divergence of insect CYP6B proteins: From specialist to generalist cytochrome P450 [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2004, 101 (9): 2939–2944.
- Li YX, LV Q, Liang J, et al. Dynamic contents of phenolic compounds in poplars inoculated with *Botryosphaeria dothidea* [J]. *Forest Pest and Disease*, 2011, 30 (5): 1–5. [理永霞, 吕全, 梁军, 等. 感、抗病杨树种类接种溃疡病菌后酚类物质的变化 [J]. 中国森林病虫, 2011, 30 (5): 1–5]
- Liu J, Li J, Chen M, et al. Genetic diversity of *Hyphantria cunea* populations in China by AFLP analysis [J]. *Journal of Beijing Forestry University*, 2012, 34 (4): 107–113. [刘颀, 李婧, 陈敏, 等. 中国美国白蛾种群遗传多样性的 AFLP 分析 [J]. 北京林业大学学报, 2012, 34 (4): 107–113]
- Mou SF, Liang P, Gao XW. Effects of quercetin on specific activity of carboxylesterase and glutathione S-transferases in *Bemisia tabaci* [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2006, 43 (4): 491–495. [牟少飞, 梁沛, 高希武. 槲皮素对 B 型烟粉虱羧酸酯酶和谷胱甘肽 S-转移酶活性的影响 [J]. 应用昆虫学报, 2006, 43 (4): 491–495]
- Peng L, Yan Y, Liu WX, et al. Counter-defense mechanisms of phytophagous insects towards plant defense [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2010, 53 (5): 572–580. [彭露, 严盈, 刘万学, 等. 植食性昆虫对植物的反防御机制 [J]. 昆虫学报, 2010, 53 (5): 572–580]
- Pu MW. Evaluation of Host Plant Quality and Host Selection Behavior of *Spodoptera litura* (Fabricius) [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2007. [浦名伟. 斜纹夜蛾寄主质量评价及寄主选择行为研究 [D]. 扬州: 扬州大学, 2007]
- Ramsey JS, Rider DS, Walsh TK, et al. Comparative analysis of detoxification enzymes in *Acyrtosiphon pisum* and *Myzus persicae* [J]. *Insect Molecular Biology*, 2010, 19 (2): 155–164.
- Rani PU, Jyothsna Y. Biochemical and enzymatic changes in rice plants as a mechanism of defense [J]. *Plantarum*, 2010, 32 (4): 695–701.
- Rani PU, Pratyusha S. Defensive role of *Gossypium hirsutum* L. anti-oxidative enzymes and phenolic acids in response to *Spodoptera litura* F. feeding [J]. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 2013, 16 (2): 131–136.
- Su C, Jing J, Wang MM, et al. Effects of different host plants on the development and fecundity of *Lemyra alikangensis* (Strand) (Lepidoptera: Arctiidae) [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2013, 50 (6): 1614–1621. [苏超, 景军, 王猛, 等. 不同寄主植物对三条橙灯蛾生长发育和繁殖的影响 [J]. 应用昆虫学报, 2013, 50 (6): 1614–1621]
- Sullivan GT, Karaca I, Ozman – Sullivan SK. Chalcidoid parasitoids of overwintered pupae of *Hyphantria cunea* (Lepidoptera: Arctiidae) in hazelnut plantations of Turkey's central Black Sea region [J]. *Canadian Entomologist*, 2011, 143 (4): 411–414.
- Sullivan GT, Ozman – Sullivan SK. Tachinid (Diptera) parasitoids of *Hyphantria cunea* (Lepidoptera: Arctiidae) in its native North America and in Europe and Asia – A literature review [J]. *Acta Entomol Fenn*, 2012, 23 (4): 181–192.
- Van LT, Van PS, Tirry L. Comparative acaricide susceptibility and detoxifying enzyme activities in field-collected resistant and susceptible strains of *Tetranychus urticae* [J]. *Pest Management Science*, 2005, 61 (5): 499–507.
- Wang BJ, Shahzad MF, Zhang Z, et al. Genome-wide analysis reveals the expansion of cytochrome P450 genes associated with xenobiotic metabolism in rice striped stem borer, *Chilo suppressalis* [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2014, 457 (1): 1–5.

- 443 (2): 756–760.
- Wang FQ, Sang CW. The integrated control of *Hyphantria cunea* [J]. *Forestry of China*, 2008, 7: 43–43. [王凤琴, 桑成武. 美国白蛾的综合防治 [J]. 中国林业, 2008, 7: 43–43]
- Wang GH, Zhao QJ, Xu FD, et al. Influence of three kinds of plant leaves on *Prodenia litura* nutrient effect and intestinal enzyme activity [J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2016, 44 (2): 77–80. [王桂花, 赵庆杰, 徐凡丁, 等. 3种植物叶片对斜纹夜蛾营养效应及中肠酶活性的影响 [J]. 贵州农业科学, 2016, 44 (2): 77–80]
- Wang RL, Sun YL, Liang XT, et al. Effects of six plant secondary metabolites on activities of detoxification enzymes in *Spodoptera litura* [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2012, 32 (16): 5191–5198. [王瑞龙, 孙玉林, 梁笑婷, 等. 6种植物次生物质对斜纹夜蛾解毒酶活性的影响 [J]. 生态学报, 2012, 32 (16): 5191–5198]
- Wang Y. The Effect of Four Pesticides on *Paratrioza sinica* Yang et Li and the Activity of Acetylcholinesterase [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agriculture University, 2008. [王莹, 四种农药对枸杞木虱及其乙酰胆碱酯酶活性的影响 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2008]
- Wang Y. The Influence of Different Maize Hybrids (inbreds) and Tannin and Gallic Acid to the Detoxification Enzymes of *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) [D]. Zhengzhou: Henan Agriculture University, 2016. [王怡. 不同玉米品种 (系) 及单宁和没食子酸对玉米蚜解毒酶活性的影响 [D]. 郑州: 河南农业大学, 2016]
- Wang YJ, Zou CS, Wang RQ, et al. Insecticidal activity analysis of three plant secondary metabolites on *Lymantria dispar* [J]. *Journal of Beijing Forestry University*, 2017, 39 (11): 75–81. [王亚军, 邹传山, 王若茜, 等. 3种植物次生代谢物质对舞毒蛾的杀虫活性分析 [J]. 北京林业大学学报, 2017, 39 (11): 75–81]
- War AR, Paulraj MG, War MY, et al. Herbivore – and elicitor – induced resistance in groundnut to Asian armyworm, *Spodoptera litura* (Fab.) (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2011, 6 (11): 1769–1777.
- War AR, Paulraj MG, War MY, et al. Jasmonic acid-mediated-induced resistance in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) against *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2011, 30 (4): 512–523.
- Wen Z, Pan L, Berenbaum MR, et al. Metabolism of linear and angular furanocoumarins by *Papilio polyxenes* CYP6B1 co-expressed with NADPH cytochrome P450 reductase [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2003, 33 (9): 937–947.
- Xie X. Extraction and Analysis of Phenolic Acids in Poplar Branches and their Effect to *Saperda populnea* L [D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2010. [谢兴. 杨树枝条酚酸的提取与分析及其对青杨天牛的影响 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2010]
- Yang Z, Wei J, Wang X. Mass rearing and augmentative releases of the native parasitoid *Chouioia cunea* for biological control of the introduced fall webworm *Hyphantria cunea* in China [J]. *BioControl*, 2006, 51 (4): 401–418.
- Zhang LP, Sun CX, Li JQ, et al. The present conditions and development trend of plant polyphenols research [J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2005, 41 (6): 157–162. [张力平, 孙长霞, 李俊清, 等. 植物多酚的研究现状及发展前景 [J]. 林业科学, 2005, 41 (6): 157–162]
- Zhang YJ. The Seasonal Changes of Secondary Metabolites Phenolic Contents in Urban Greening Plants and its Response to Air Pollution [D]. Xi'an: Xi'an University of Architecture and Technology, 2014. [张雅静. 植物次生代谢酚类物质含量的季节性变化及其对空气污染的响应 [D]. 西安: 西安建筑科技大学, 2014]
- Zhou BG, Wang S, Dou TT, et al. Aphicidal activity of illicium verum fruit extracts and their effects on the acetylcholinesterase and glutathione S-transferases activities in *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) [J]. *Journal of Insect Science*, 2016, 16 (1): 11.
- Zhu JH. Development and nutrition of *Prodenia litura* on four food plants [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2005, 42 (6): 643–646. [朱俊洪. 四种食料植物对斜纹夜蛾生长发育及营养指标的影响 [J]. 应用昆虫学报, 2005, 42 (6): 643–646]
- Zhu XZ, Luo JY, Zhang S, et al. Effects of plant secondary metabolites gossypol and rutin on the activities of protective enzymes and detoxification enzymes in green mirid bug *Apolygus lucorum* [J]. *Journal of Plant Protection*, 2018, 45 (5): 1044–1053. [朱香镇, 雒珺瑜, 张帅, 等. 植物源次生物质棉酚和芸香苷对绿盲蝽保护酶与解毒酶活性的影响 [J]. 植物保护学报, 2018, 45 (5): 1044–1053]
- Zibae I, Bandani AR, Sendi JJ. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* to fall webworm (*Hyphantria cunea*) (Lepidoptera: Arctiidae) on different host plants [J]. *Plant Protection Science*, 2013, 49 (4): 169–176.