



范程程, 李明俊, 许力山, 齐琪, 孙丽丽, 曹传旺. 舞毒蛾谷胱甘肽 S-转移酶对杨树次生物质协同溴氰虫酰胺的胁迫响应 [J]. 环境昆虫学报, 2023, 45 (5): 1437–1445.

舞毒蛾谷胱甘肽 S-转移酶对杨树次生物质 协同溴氰虫酰胺的胁迫响应

范程程¹, 李明俊², 许力山¹, 齐琪¹, 孙丽丽¹, 曹传旺^{1*}

(1. 东北林业大学森林生态系统可持续经营教育部重点实验室, 哈尔滨 15004; 2. 内蒙古赤峰市宁城县坤头河林场, 宁城 024228)

摘要: 为了明确舞毒蛾 *Lymantria dispar* 谷胱甘肽 S-转移酶 (GST) 对杨树次生物质协同溴氰虫酰胺的胁迫响应机制, 选择 3 种杨树次生物质 (黄酮、槲皮素、芦丁) 以及新型邻二苯甲酰胺类杀虫剂溴氰虫酰胺作为胁迫外源化合物, 以舞毒蛾 2 龄幼虫为研究对象, 通过人工饲料添加次生物质和溴氰虫酰胺的单剂和混剂, 测定对舞毒蛾存活率、谷胱甘肽 S-转移酶活性及其基因表达影响。结果表明, 处理 48 h 后, 3 种联合处理组舞毒蛾幼虫的存活率显著低于对照组和各杨树次生物质单剂处理组, 存活率依次为 53.33%、60.00% 和 53.33%, 各联合处理组幼虫存活率与溴氰虫酰胺处理组差异不显著。除处理 6 h 外, 不同杨树次生物质单剂处理后 GST 活性均诱导增加。溴氰虫酰胺处理组在 48 h 内 GST 活性显著高于单剂处理组和对照组。除联合处理 1 在 6 h、12 h 的 GST 诱导活性低于溴氰虫酰胺处理组外, 各联合处理组的 GST 诱导活性均高于溴氰虫酰胺处理组。舞毒蛾 2 龄幼虫取食含有不同处理的人工饲料后, 其体内 *LdGSTe2*、*LdGSTs1*、*LdGSTs2* 和 *LdGSTz1* 均有所表达, 且不同处理的诱导程度呈现差异。以上研究结果为杨树次生物质协同溴氰虫酰胺防控舞毒蛾提供理论依据, 同时为生产实践中杀虫剂的合理使用提供参考。

关键词: 舞毒蛾; 次生物质; 溴氰虫酰胺; 谷胱甘肽 S-转移酶; 基因表达

中图分类号: Q965.9; S433

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2023) 05-1437-09

Responses of glutathione S-transferase in *Lymantria dispar* to poplar secondary metabolites synergistic with cyantraniliprole

FAN Cheng-Cheng¹, LI Ming-Jun², XU Li-Shan¹, QI Qi¹, SUN Li-Li¹, CAO Chuan-Wang^{1*} (1. Key Laboratory of Sustainable Forest Ecosystem Management-Ministry of Education, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China; 2. Kuntouhe Forest Farm, Ningcheng, Chifeng City, Inner Mongolia, Ningcheng 024228, China)

Abstract: In order to clarify the response mechanism of poplar secondary metabolites on glutathione S-transferase in *Lymantria dispar*, three poplar secondary metabolites (flavone, quercetin, and rutin) and the new o-dibenzamide insecticide (cyantraniliprole) were chosen as stress xenobiotics. The 2nd instar larvae of *L. dispar* were used to investigate the effects of single and joint of poplar secondary metabolites and cyantraniliprole on survival rates, enzyme activity and gene expression. After treatment for 48 h, the results showed that the survival rate of larvae in the three combined treatment groups was significantly lower than that of the control group and each single poplar secondary substance treatment group with the survival rates of 53.33%, 60.00% and 53.33%, respectively. For survival rate, there was no significant

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2018YFC1200400)

作者简介: 范程程, 女, 1998 年生, 硕士研究生, 研究方向为昆虫生理生化与分子毒理学, E-mail: 583309116@qq.com

* 通讯作者 Author for correspondence: 曹传旺, 男, 博士, 教授, 研究方向为昆虫生理生化与分子毒理学, E-mail: chuanwangcao@nefu.edu.cn

收稿日期 Received: 2022-07-16; 接受日期 Accepted: 2022-11-25

difference between three combined treatment groups and the cyantraniliprole-treated group. Except for 6 h of treatment, GST activity was induced by different single poplar secondary metabolite. The GST activity in cyantraniliprole-treated group was significantly higher than the control group and single secondary metabolite group during 48 h. Except the GST activities in the mixture treatment I were lower than cyantraniliprole treatment at 6 h and 12 h, the GST activity in mixture I and mixture II treatments was higher than that of the cyantraniliprole treatment. The *LdGSTe2*, *LdGSTs1*, *LdGSTs2* and *LdGSTz1* genes differentially expressed in 2nd instar larvae of *L. dispar* under different treatments. These results will provide theoretical foundation for the controlling *L. dispar* by combined usage of poplar secondary substances and cyantraniliprole, as well as provide a reference basis for the rational usage of insecticides in practice.

Key words: *Lymantria dispar*; secondary metabolite; cyantraniliprole; glutathione S-transferase; gene expression

昆虫谷胱甘肽 S-转移酶 (Glutathione S-transferase, GST) 在异源化合物的解毒中起重要作用, 并与杀虫剂抗性有关 (Huang *et al.*, 2011)。GSTs 主要催化亲电化合物与还原性谷胱甘肽 (GSH) 的巯基结合, 对底物进行亲核代谢, 使合成产物更易溶于水和排泄 (Habig *et al.*, 1974)。植物通过产生对昆虫有害或有毒的次生物质来抵御植食性昆虫, 同时对昆虫体内的解毒酶具有诱导作用 (Howe and Herde, 2015), 昆虫为了降低植物次生物质带来的不利影响, 也进化出多种适应性机制, 例如体内作用靶标发生变化, 各种代谢酶诱导表达等 (陈澄宇等, 2015)。绿盲蝽 *Apolygus lucorum*、斜纹夜蛾 *Spodoptera litura*、麦红吸浆虫 *Sitodiplosis mosellana* 等昆虫取食不同的植物次生物质后, 能够诱导 GST 基因表达上调 (黄敏燕等, 2018; 朱香镇等, 2018; 陈锐等, 2020)。

溴氰虫酰胺 (Cyantraniliprole) 是新型邻二苯甲酰胺类杀虫剂, 具有高效低毒、杀虫范围广、安全、不易产生交互抗性等特性 (胡译文等, 2016; 李增鑫, 2021)。亚致死剂量溴氰虫酰胺处理甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua*、灰飞虱 *Laodelphax striatellus*、小地老虎 *Agrotis ypsilon*, 昆虫体内 GST 活力表现为明显的诱导作用, 表明 GST 参与昆虫解毒并起到关键作用 (余慧灵, 2018; 何发林等, 2019; 张凯伦等, 2020)。

昆虫响应次生物质与化学杀虫剂的共胁迫毒理研究已有相关报道。董向丽等 (1998) 研究表明芸香苷与甲基对硫磷联合处理可以大幅度提高棉铃虫 *Helicoverpa armigera* GST 的活性。芸香苷、槲皮素和 2-十三烷酮可诱导棉铃虫体内 GST 活性升高, 槲皮素处理组对甲基对硫磷的敏感性降低

近 50%, 芸香苷和 2-十三烷酮处理组对甲基对硫磷的敏感性略有降低 (高希武, 1997)。植物化感物质可以诱导棉铃虫体内 GST 活性, 可以利用其寄主的植物化感物质来阐述其对灭多威和毒死蜱的防御 (Zhu *et al.*, 2017)。韭菜迟眼蕈蚊 *Bradysia odoriphaga* 在大蒜和腐殖质饲养的幼虫 GST 活性高于在韭菜和平菇上饲养的幼虫, 所以在大蒜和腐殖质上饲养的幼虫抗胁迫能力增强 (Chen *et al.*, 2018)。目前, 国内外对于杨树次生物质参与舞毒蛾响应杀虫剂代谢机制研究甚少, 因此, 本文通过在饲料中分别添加寄主杨树次生物质 (黄酮、槲皮素、芦丁) 以及溴氰虫酰胺, 测定舞毒蛾幼虫存活率、GST 活性及其基因的表达量, 从基因和蛋白水平评价杨树次生物质对舞毒蛾响应溴氰虫酰胺敏感性的影响。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

舞毒蛾卵块采集于内蒙古自治区赤峰市宁城县坤头河林场, 人工饲料购买于中国林业科学研究院森林生态环境与自然保护研究所。将舞毒蛾卵块包裹于纱布中后浸泡于 10% ~ 15% 甲醛溶液 40 min, 自来水冲洗 10 min 并晾干水分, 幼虫孵化后置于人工气候箱内 (25℃、光周期 14 L : 10 D、相对湿度 70%) 进行饲养, 挑取健康、大小一致的舞毒蛾 2 龄幼虫作为供试昆虫。

1.2 主要试剂

谷胱甘肽 S-转移酶 (GST) 活性检测试剂盒购自 Solarbio 公司。SYBR Green Real-time PCR Master mix 荧光定量 PCR 试剂盒购自 Toyobo 公司;

RNeasy Mini 购自 Qiagen 公司；Taq 聚合酶及 PCR 相关试剂、Prime Script™ RT reagent Kit cDNA 合成试剂盒均购自 TaKaRa 公司。黄酮 (Flavone) 原药 (99.0%) 购自 Amresco 公司，槲皮素 (Quercetin) 原药 (97.0%) 购自 Scientific Instrument 公司，芦丁 (Rutin) 原药 (95.0%) 购自上海九鼎化学科技有限公司，溴氰虫酰胺原药 (97.0%) 购自 DuPont 公司。

1.3 舞毒蛾致毒处理

黄酮、槲皮素和芦丁含量的选择参考杨树叶片次生物质含量及相关胁迫浓度，3 种次生物质的含量分别为黄酮 0.8% (w/w)、槲皮素 0.02% (w/w) 和芦丁 0.5% (w/w)。根据毒力测定结果 (表 1)，将溴氰虫酰胺处理舞毒蛾 2 龄幼虫 48 h

亚致死浓度 LC₃₀ (4.06 mg/L) 作为处理浓度。黄酮 (8.8 g/L)、槲皮素 (0.22 g/L)、芦丁 (5.5 g/L) 经换算后分别与溴氰虫酰胺 (4.06 mg/L) 混合作为联合处理 1、联合处理 2 和联合处理 3。将不同药剂溶于二甲基亚砜 (DMSO) 后混入人工饲料作为处理组，对照组为加入等量 DMSO 的人工饲料。

选择健康、活泼、大小一致舞毒蛾 2 龄幼虫饥饿 24 h 后，分别接入含溶剂 DMSO、黄酮、槲皮素、芦丁、溴氰虫酰胺、联合处理 1、联合处理 2、联合处理 3 的饲料中，每个处理 20 头幼虫，重复 4 次，处理后于 6 h、12 h、24 h、48 h 随机挑取活泼的舞毒蛾 2 龄幼虫，经液氮速冻后保存于 -80℃ 冰箱，用于后续检测 GST 活性及其基因表达量。

表 1 溴氰虫酰胺对舞毒蛾 2 龄幼虫 48 h 毒力

Table 1 Toxicity of cyantraniliprole on the 2nd instar larvae of *Lymantria dispar* treated for 48 h

毒力回归方程 Toxicity regression equation	LC ₃₀ (mg/L)	置信区间 (mg/L) Confidence interval	LC ₅₀ (mg/L)	置信区间 (mg/L) Confidence interval	卡方值 (自由度) χ ² (df)	相关系数 R ² Correlation coefficient
y = 1.82x + 3.37	4.06	3.01 ~ 5.47	7.87	5.56 ~ 11.13	4.96 (13)	0.99

注：χ²_(13, 0.05) = 22.36，故毒力回归方程与实际相符。Note: χ²_(13, 0.05) = 22.36, toxicity regression equation was consistent with the reality.

1.4 舞毒蛾 GST 活性测定

谷胱甘肽 S-转移酶 (GST) 测定按照 GST 活性检测试剂盒 (Solarbio) 说明书的步骤进行，活性单位为 μmol/min/mg protein。蛋白质含量测定采用 Bradford (1976) 的考马斯亮蓝 G-250 法。

1.5 实时荧光定量 RT-PCR

采用 RNeasy Mini 动物组织总 RNA 提取试剂盒提取对照和不同处理的舞毒蛾样品总 RNA。采用 Prime Script™ RT reagent Kit cDNA 合成试剂盒将各处理组 0.5 μg Total RNA 分别合成 cDNA，作为实时荧光定量 RT-PCR 模板。选择课题组前期从舞毒蛾转录组中筛选获得的经次生物质处理后可引起基因诱导表达上调的 GST 基因 (*LdGSTe2*、*LdGSTs1*、*LdGSTs2* 和 *LdGSTz1*) 作为候选基因 (王振越, 2020)，检测 GST 基因表达量。

实时荧光定量 RT-PCR 使用 SYBR Green Real-time PCR Master mix 试剂盒，内参为 *Actin* 和 *EF1α* 基因，引物序列见表 2。实时荧光定量 RT-PCR 反应体系为 2 × SYBR premix Ex Taq 酶 10 μL、Primer mix (10 μmol/L) 1 μL、cDNA 2 μL，使用 DEPC

水补足至 20 μL。反应条件为：94℃ 预变性 30 s，94℃ 变性 12 s，60℃ 退火 45 s，72℃ 延伸 45 s，81℃ 读板 1 s，45 个循环，每个样品重复 3 次。

1.6 数据统计与分析

实验结果以平均值 ± 标准差表示，运用 SPSS 17.0 软件，采用 Duncan 方法进行差异显著性分析 ($P < 0.05$)，用 GraphPad Prism 8.0.2 软件进行绘图。实时荧光定量 RT-PCR 数据经仪器自带的 Opticon Monitor 3 软件处理。舞毒蛾 GST 基因表达量用 2^{-ΔΔCt} 方法进行相对表达量分析 (Pfaffl, 2001)。

Abott 公式用于评估联合药剂对受试对象的联合毒性 (Gisi, 1996; Gatidou and Thomaidis, 2007)，期望抑制率 C_{exp} 及复合胁迫表征值 RI 分别用下式表示：

$$C_{\text{exp}} = A + B - AB / 100\% ; RI = OI / C_{\text{exp}}$$

式中 A、B 分别表示单一组分胁迫抑制率；OI 为联合胁迫抑制率；RI 用于判断两种组分对受试对象的联合毒性；RI < 1 表现为毒性拮抗，RI = 1 表现为毒性简单相加，RI > 1 表现为毒性协同 (Chesworth *et al.*, 2004)。

表 2 目的基因 RT-qPCR 引物序列
Table 2 Primer sequences of target gene for RT-qPCR

基因 Gene	正向引物序列 (5' - 3') Forward primer sequences	反向引物序列 (5' - 3') Reverse primer sequences	扩增片段大小 (bp) Sequence length
<i>LdGSTe2</i>	GCAGCGGAATGCTTGCTG	ACTGTGGTACGTGTGCCTAG	245
<i>LdGSTs1</i>	CTGTCTGGAGAGTATGGCAC	CACAATGCCAACTCAGCCCAG	211
<i>LdGSTs2</i>	GCGTCAGTTCATGAGCC	CCCCAAGATCGGGCATTG	214
<i>LdGSTz1</i>	CTTGGCGTTAGAATCGCA	CGTTTGAAGCAGTCTTGGGGC	238
<i>Actin</i>	AGAAGCACTTGGCGTGGACAAT	ACCTGTACGCCAACACTGTCAT	252
<i>EFlα</i>	TTTGCCTTCCTTGGCTCAACA	TGTAAAGCAGCTGATCGTGGGT	223

2 结果与分析

2.1 次生物质与溴氰虫酰胺联合作用对舞毒蛾存活率的影响

舞毒蛾 2 龄幼虫在不同胁迫处理下 48 h 存活率不同 (表 3)。处理 48 h 后, 对照组 (DMSO)、槲皮素、芦丁处理组幼虫存活率为 100%, 黄酮处

理组存活率为 93.33%。溴氰虫酰胺处理组幼虫存活率为 66.67%, 显著低于对照 (DMSO) 和次生物质单剂处理组 ($P < 0.05$)。在 48 h, 3 个联合处理组幼虫存活率与溴氰虫酰胺处理组差异不显著。存活率依次为 53.33%、60.00% 和 53.33%。联合处理 1、联合处理 2 和联合处理 3 联合胁迫表征值分别为 1.24、1.20 和 1.40, 联合毒性均表现为协同作用。

表 3 次生物质和溴氰虫酰胺对舞毒蛾幼虫存活率的影响

Table 3 Effects of secondary metabolites and cyantraniliprole on survival rate of *Lymantria dispar* larvae

处理 Treatments	存活率 (%) Survival rate			
	6 h	12 h	24 h	48 h
对照 Control	100 a	100 a	100 a	100 a
黄酮 Flavone	100 a	100 a	100 a	93.33 ± 9.43 a
槲皮素 Quercetin	100 a	100 a	100 a	100 a
芦丁 Rutin	100 a	100 a	100 a	100 a
溴氰虫酰胺 cyantraniliprole	96.67 ± 4.71 a	90.00 ± 8.16 b	80.00 ± 8.16 b	66.67 ± 4.71 b
联合处理 1 mixture treatment I	100 a	90.00 ± 8.16 b	76.67 ± 4.71 b	53.33 ± 4.71 b
联合处理 2 mixture treatment II	96.67 ± 4.71 a	86.67 ± 4.71 b	76.67 ± 4.71 b	60.00 ± 8.16 b
联合处理 3 mixture treatment III	93.33 ± 4.71 a	83.33 ± 4.71 b	70.00 ± 8.16 b	53.33 ± 4.71 b

注: 不同小写字母表示同一时间不同处理间的差异显著性 ($P < 0.05$)。Note: Lowercase letters showed significantly difference between treatments at the same time at 0.05 level.

2.2 次生物质与溴氰虫酰胺联合作用对 GST 活性的影响

除了 6 h 之外, 不同植物次生物质单独处理后的酶活性均有诱导增加作用。与黄酮和芦丁处理组相比, 槲皮素处理组在 24 h 和 48 h 对 GST 酶的诱导作用更强, 分别为 2.65 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein 和 2.43 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein。溴氰虫酰胺对 GST

活性诱导效果显著高于单一次生物质作用, 24 h 诱导效果最大, 为 2.79 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein, 为对照组的 2.36 倍。除联合处理 1 在 6 h、12 h 的 GST 诱导活性分别低于溴氰虫酰胺处理 6 h、12 h 活性外, 各联合处理组的 GST 诱导活性均高于溴氰虫酰胺处理组。联合处理 2 在 24 h 和 48 h 诱导活性分别为 3.65 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein 和 3.24 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$

protein, 分别为对照组的 3.09 倍和 3.12 倍, 显著高于联合处理组 1 和联合处理 3。溴氰虫酰胺和联

合处理胁迫对 GST 的诱导趋势均表现为先升高后降低, 且在 24 h 达到峰值 (图 1)。

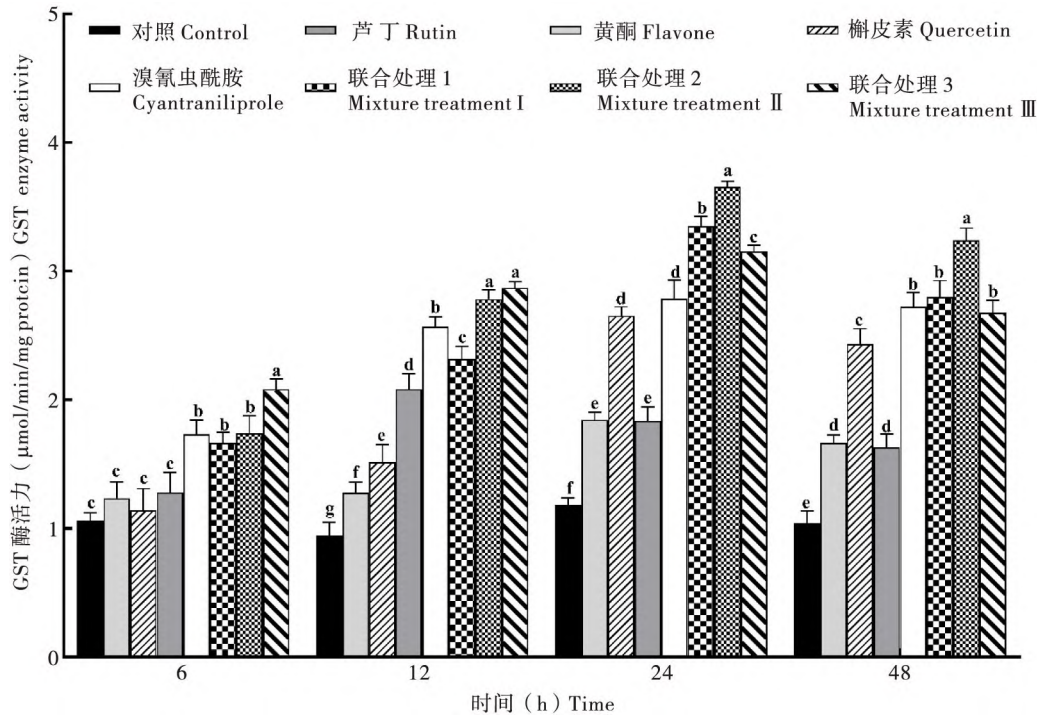


图 1 次生物质和溴氰虫酰胺对舞毒蛾 2 龄幼虫 GST 活性影响

Fig. 1 Effects of secondary metabolites and cyantraniliprole on GST activity in the *Lymantria dispar* larvae

注: 不同小写字母表示同一时间不同处理组间的差异显著性 ($P < 0.05$)。Note: Lowercase letters showed significantly difference between treatments at the same time at 0.05 level.

2.3 次生物质与溴氰虫酰胺联合作用对 GST 基因表达的影响

不同胁迫处理对舞毒蛾 2 龄幼虫 GST 基因 *LdGSTe2*、*LdGSTs1*、*LdGSTs2* 和 *LdGSTz1* 表达的影响如图 2 所示。不同胁迫处理均使 *LdGSTe2* 基因表达水平上调。芦丁处理 6 ~ 24 h, *LdGSTe2* 表达量显著高于其它次生物质处理组, 且在 6 h 基因表达量上升至最大值, 是对照组的 24.08 倍。3 组联合处理 6 h *LdGSTe2* 基因表达水平均显著高于对照组, 分别为对照组的 3.15 倍、37.98 倍和 6.48 倍, 高于溴氰虫酰胺单剂的基因表达量, 其中联合处理 2 的诱导作用显著高于其它处理组。

次生物质和溴氰虫酰胺胁迫均使 *LdGSTs1* 基因表达水平显著上调。黄酮组处理 48 h 后, *LdGSTs1* 基因表达量显著高于槲皮素处理组和芦丁组的基因表达量, 为对照的 10.88 倍。溴氰虫酰胺处理组 *LdGSTs1* 表达量为对照组基因表达量的 1.02 ~ 3.71 倍, 且除 6 h 和 24 h 外, 溴氰虫酰胺在 12 h 和 48 h 基因表达量显著低于芦丁和槲皮素处理组

基因表达量。3 种联合处理 6 h、12 h 和 48 h *LdGSTs1* 表达水平显著上调, 联合处理 1 处理 48 h *LdGSTs1* 基因表达水平显著升高, 为对照组基因表达量的 11.21 倍。联合处理 2 处理 12 h, *LdGSTs1* 表达量为对照组的 5.22 倍。联合处理 3 处理 6 h, *LdGSTs1* 表达量上升至最大值, 为对照组基因表达量的 10.88 倍。

黄酮处理 48 h *LdGSTs2* 基因表达量显著升高, 为对照组基因表达量的 33.02 倍, 但在其它时间点 *LdGSTs2* 的相对表达量则较对照组显著降低。槲皮素处理 24 h, *LdGSTs2* 的表达水平显著降低, 为对照的 27.09%。溴氰虫酰胺处理 6 h, *LdGSTs2* 的相对表达量显著高于对照, 为对照的 24.06 倍, 同时 6 ~ 24 h 的基因相对表达量均高于次生物质处理组。3 种联合处理 6 h, *LdGSTs2* 相对表达量显著上调, 联合处理 3 的基因表达量最大, 为对照的 33.02 倍, 但 12 ~ 48 h 联合处理 1 和联合处理 2 *LdGSTs2* 相对表达量低于对照组。

次生物质胁迫下 *LdGSTz1* 相对表达量上调, 其

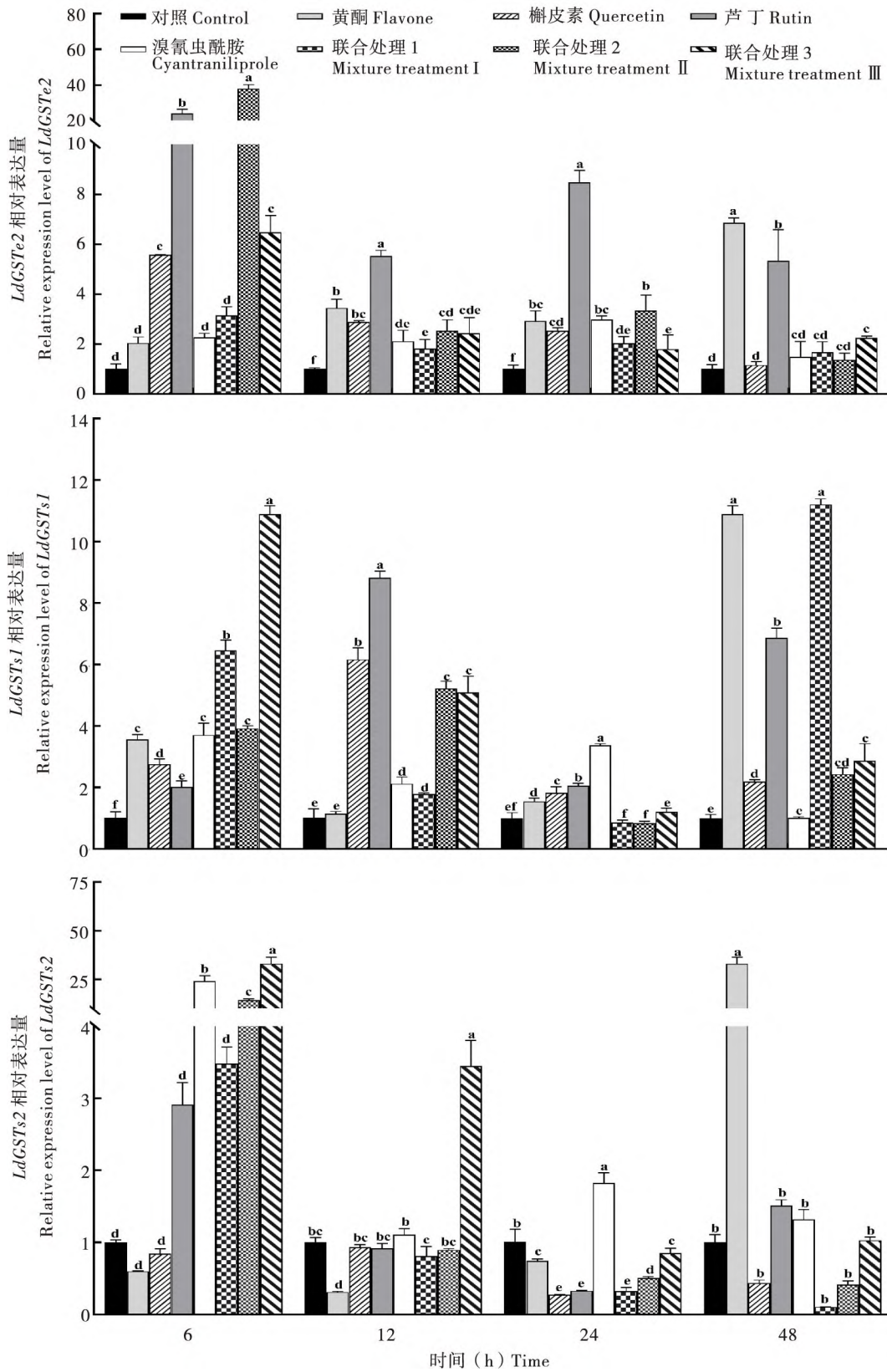


图2 次生物质和溴氰虫酰胺对舞毒蛾幼虫 GST 基因表达量影响

Fig. 2 Effects of secondary metabolites and cyantraniliprole on the expressions of GST genes in *Lymantria dispar* larvae

(图2 未完, 接下页)

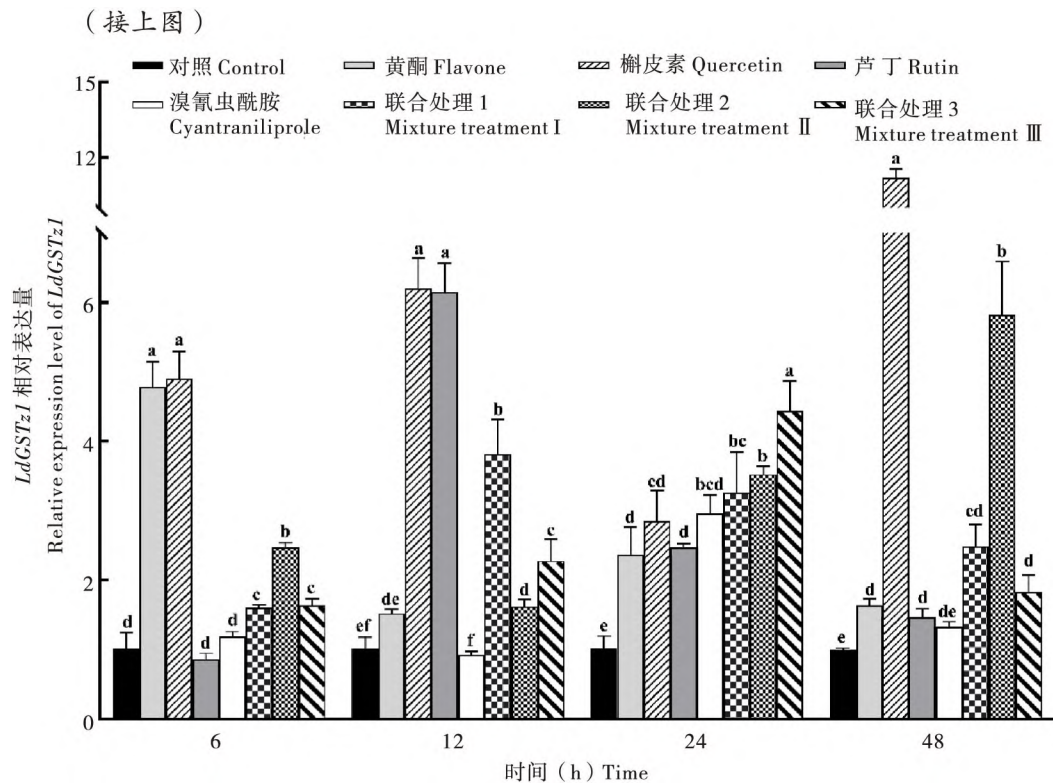


图2 次生物质和溴氰虫酰胺对舞毒蛾幼虫 *GST* 基因表达量影响

Fig. 2 Effects of secondary metabolites and cyantraniliprole on the expressions of *GST* genes in *Lymantria dispar* larvae
注：不同小写字母表示同一时间不同处理组间的差异显著性 ($P < 0.05$)。Note: Lowercase letters showed significantly difference between treatments at the same time at 0.05 level.

中槲皮素处理组 *LdGSTz1* 基因表达量高于其它次生物质处理组，且在 48 h 基因相对表达量达到最高值，为对照的 11.20 倍。溴氰虫酰胺处理 24 h 后，*LdGSTz1* 的基因表达量为对照的 2.96 倍，但在 12 h 和 48 h 的基因表达量均低于次生物质处理组。3 种联合处理组 *LdGSTz1* 基因表达量显著高于对照组。联合处理 1 处理 12 h 基因表达量达到峰值，为对照的 3.77 倍，但在 12 ~ 48 h 的基因表达水平逐渐降低。联合处理 2 在 12 h 的基因表达量最低，为对照的 1.62 倍，但随时间延长基因表达逐渐升高。联合处理 3 组的基因表达水平表现为先升高后降低。在 6 ~ 24 h 的基因表达量由对照的 1.64 倍上升至对照的 4.44 倍，但在 48 h 降低至对照的 1.83 倍。

3 结论与讨论

研究发现谷胱甘肽 S-转移酶活性的升高可以加快对外源有毒物质的代谢过程，增强昆虫对逆境的适应性 (李时荣等, 2018; 樊艳平等, 2020)。氟氰菊酯、氟虫腈和硫丹 3 种杀虫剂处理马铃

薯甲虫 *Leptinotarsa decemlineata* 后，*LdGSTe2a*、*LdGSTe2b*、*LdGSTo5* 和 *LdGSTi1* 均显著过量表达 (Han *et al.*, 2016)。甲氧虫酰胺处理棉铃虫 48 h 后 *GSTs1* 相对表达量显著升高，而 *GSTe2* 表达量先降低后升高，表明 *GSTs1* 和 *GSTe2* 通过表达量的变化影响 *GST* 酶活力进而形成对杀虫剂的抗性 (徐希宝等, 2014)；水杨酸和芦丁饲喂舞毒蛾后，可使 *LdGSTe4* 和 *LdGSTo1* 显著诱导表达，将该基因沉默后会导致幼虫对水杨酸和芦丁的适应性降低 (Ma *et al.*, 2021)。舞毒蛾 *LdGSTe2*、*LdGSTs1*、*LdGSTs2* 和 *LdGSTz1* 基因在对次生物质的胁迫响应中表达量显著升高，将舞毒蛾相关 *GST* 基因沉默后，导致幼虫对不良环境的适应能力减弱，证实昆虫对不良环境的应答机制与 *GST* 基因的表达密切相关 (王振越, 2020)。次生物质和溴氰虫酰胺对舞毒蛾 *GST* 主要表现为显著诱导效应，其中联合处理胁迫下的 *GST* 酶活性主要表现为高于溴氰虫酰胺处理，但与各联合处理所对应的次生物质单剂相比显著上升，且呈现不同的时间 - 活力趋势变化。

害虫取食不同寄主植物后，对杀虫剂的敏感

性可分为 3 类：敏感性下降、无明显变化以及升高（姚洪涓等，2002）。本研究综合评价 3 种杨树次生物质黄酮、槲皮素、芦丁影响舞毒蛾对溴氰虫酰胺敏感性，次生物质与溴氰虫酰胺联合毒性效果均为协同作用。舞毒蛾在次生物质的诱导下，GST 解毒活性升高，基因表达水平增加，证明 GST 相关基因参与了舞毒蛾对植物次生物质的解毒代谢过程（Ma *et al.*，2021），舞毒蛾抗药性增强，敏感性下降，受到化学药剂胁迫后，舞毒蛾死亡率上升，这是因为寄主植物中的次生物质诱导激活或抑制昆虫体内与杀虫剂代谢相关的解毒酶系，导致昆虫对药剂敏感性发生变化（Nena *et al.*，2018）。次生物质饲喂水稻、小麦、狗尾巴草诱导的中华稻蝗 *Oxya chinensis* 体内 GST 活性的变化是导致其对马拉硫磷敏感性差异的原因之一（张睿，2008）。饲喂芸香苷后，提高了棉铃虫对甲基对硫磷和灭多威的耐药性，棉铃虫取食槲皮素提高了其 F₂ 代对灭多威的毒力；取食 2-十三烷酮后，提高了棉铃虫对溴氰菊酯的耐药性（董向丽等，1998）。斜纹夜蛾幼虫饲喂大豆和菜花后对丙烯磷有较高的 GST 诱导活性（Karuppaiah *et al.*，2016）。因此，在制定舞毒蛾的防治策略时，应考虑不同寄主植物对舞毒蛾解毒酶的诱导和毒性改变的重要性，这为植物与昆虫互作提供更加丰富的理论依据，并指导生产实践中杀虫剂的合理使用。

参考文献 (References)

- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding [J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72 (2): 248 - 254.
- 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 R, Gao H, Zhang GJ, *et al.* Effects of secondary metabolites in wheat kernels on activities of three detoxifying enzymes and related gene expression in *Sitotriopsis mosellana* [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2020, 53 (20): 4204 - 4214. [陈锐, 高贺, 张国军, 等. 小麦籽粒次生物质对麦红吸浆虫幼虫解毒酶活性及基因表达的影响 [J]. 中国农业科学, 2020, 53 (20): 4204 - 4214]
- Chen S, Elzaki MEA, Ding CH, *et al.* Plant allelochemicals affect tolerance of polyphagous lepidopteran pest *Helicoverpa armigera* (Hübner) against insecticides [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2018, 154: 32 - 38.
- Chesworth JC, Donkin ME, Brown MT. The interactive effects of the antifouling herbicides Irgarol 1051 and diuron on the seagrass *Zostera marina* (L.) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2004, 66 (3): 293 - 305.
- Dong XL, Gao XW, Zheng BZ. The effects of plant allelochemicals on the insecticide tolerance in cotton bollworm *Helicoverpa armigera* Hübner [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 1998, 51: 113 - 118. [董向丽, 高希武, 郑炳宗. 植物次生物质诱导作用对杀虫药剂毒力影响研究 [J]. 昆虫学报, 1998, 51: 113 - 118]
- Dong XL, Li BH, Wang SF, *et al.* The joint action of rutin and parathion - methyl on the midgut detoxifying enzymes in *Helicoverpa armigera* Hübner [J]. *Journal of Laiyang Agricultural College*, 1998, 1: 39 - 42. [董向丽, 李保华, 王思芳, 等. 芸香苷与甲基对硫磷对棉铃虫解毒酶的影响 [J]. 莱阳农学院学报, 1998, 1: 39 - 42]
- Fan YP, Dang HY, Wang HM, *et al.* Effects of mung bean trypsin inhibitor on the growth and development and the activities of detoxifying and protective enzymes in *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae) [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2020, 63 (12): 1473 - 1481. [樊艳平, 党海燕, 王宏民, 等. 绿豆胰蛋白酶抑制剂对绿豆象生长发育及体内解毒酶和保护酶活性的影响 [J]. 昆虫学报, 2020, 63 (12): 1473 - 1481]
- Gatidou G, Thomaidis NS. Evaluation of single and joint toxic effects of two antifouling biocides, their main metabolites and copper using phytoplankton bioassays [J]. *Aquatic Toxicology*, 2007, 85 (3): 184 - 191.
- Gao XW, Dong XL, Zheng BZ, *et al.* Glutathione S - transferase (GSTs) of *Helicoverpa armigera*: Induction of insecticides and plant allelochemicals and metabolism of insecticides [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 1997, 2: 122 - 127. [高希武, 董向丽, 郑炳宗, 等. 棉铃虫的谷胱甘肽 S - 转移酶 (GSTs): 杀虫剂和植物次生物质的诱导与 GSTs 对杀虫药剂的代谢 [J]. 昆虫学报, 1997, 2: 122 - 127]
- Gisi U. Synergistic interaction of fungicides in mixtures [J]. *Phytopathology*, 1996, 86 (11): 1273 - 1279.
- Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S - transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1974, 249 (22): 7130 - 7139.
- Han JB, Li JQ, Wan PJ, *et al.* Identification of glutathione S - transferase genes in *Leptinotarsa decemlineata* and their expression patterns under stress of three insecticides [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2016, 133: 26 - 34.
- He FL, Jiang XY, Shang DL, *et al.* Induction of the protective and detoxification enzymes by cyantraniliprole in *Agrotis ipsilon* [J]. *Plant Protection*, 2019, 45 (2): 90 - 96, 102. [何发林, 姜兴印, 尚佃龙, 等. 溴氰虫酰胺胁迫对小地老虎保护酶和解毒酶活性的诱导效应 [J]. 植物保护, 2019, 45 (2): 90 - 96, 102]
- Howe GA, Herde M. Interaction of plant defense compounds with the insect gut: New insights from genomic and molecular analyses [J]. *Current Opinion in Insect Science*, 2015, 9: 62 - 68.
- Hu YW, Sun JC, Geng YY, *et al.* Research progress and application status of cyantraniliprole [J]. *South China Agriculture*, 2016,

- 10 (31): 24 – 27. [胡译文, 孙建昌, 耿阳阳, 等. 溴氰虫酰胺研究进展及应用现状 [J]. 南方农业, 2016, 10 (31): 24 – 27]
- 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]
- Huang J, Wu SF, Ye GY. Molecular characterization of the sigma class glutathione S-transferase from *Chilo suppressalis* and expression analysis upon bacterial and insecticidal challenge [J]. *Journal of Economic Entomology*, 2011, 104 (6): 2046 – 2053.
- Karuppaiah V, Srivastava C, Subramanian S. Effect of host plants on insecticide susceptibility and detoxification enzymes activity in *Spodoptera litura* Fabricius (Noctuidae: Lepidoptera) [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India. Section B: Biological Sciences*, 2016, 86 (3): 715 – 721.
- Li SR, Ge ZH, Liu DG, et al. Effects of host plants on activities of detoxification enzymes in different genotypes of cereal aphid *Sitobion avenae* [J]. *Acta Agriculturae Borealis – occidentalis Sinica*, 2018, 27 (2): 283 – 293. [李时荣, 葛朝虹, 刘德广, 等. 寄主植物对不同基因型麦长管蚜解毒酶活性的影响 [J]. 西北农业学报, 2018, 27 (2): 283 – 293]
- Li ZX. Study on Detoxification and Metabolism Mechanism of *Myzus persicae* to Imidacloprid, Cyantraniliprole and Triflumezopyrim [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University Master Thesis, 2021. [李增鑫. 桃蚜对吡虫啉、溴氰虫酰胺和三氟苯嘧啶解毒代谢机制的研究 [D]. 武汉: 华中农业大学硕士论文, 2021]
- Ma JY, Sun LL, Zhao HY, et al. Functional identification and characterization of GST genes in the Asian gypsy moth in response to poplar secondary metabolites [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2021, 176: 104860.
- Nena P, John V, Thomas VL. The role of glutathione S – transferases (GSTs) in insecticide resistance in crop pests and disease vectors [J]. *Current Opinion in Insect Science*, 2018, 27: 97 – 102.
- Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR [J]. *Nucleic Acids Research*, 2001, 29 (9): e45.
- Wang ZY. Effects of Poplar Secondary Metabolites on Performance and Key Detoxifying Enzymatic Activity of *Lymantria dispar* [D]. Harbin: Northeast Forestry University Master Thesis, 2020. [王振越. 杨树主要次生物质对舞毒蛾生长发育及主要解毒酶影响 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学硕士论文, 2020]
- Xu XB, Zhang J, Rui CH. Effects of methoxyfenozide on the activities and gene expression levels of glutathione S-transferases (GST) in the methoxyfenozide – resistant and homologous control populations of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2014, 57 (12): 1381 – 1388. [徐希宝, 张靖, 芮昌辉. 甲氧虫酰肼对不同抗性棉铃虫种群谷胱甘肽 S – 转移酶活性和基因表达量的影响 [J]. 昆虫学报, 2014, 57 (12): 1381 – 1388]
- Yao HW, Ye GY, Cheng JA. Advances in the studies on the effects of host plants on insect susceptibility to insecticides [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2002, 2: 253 – 264. [姚洪渭, 叶恭银, 程家安. 寄主植物影响害虫药剂敏感性的研究进展 [J]. 昆虫学报, 2002, 2: 253 – 264]
- Yu HL. Monitoring of Resistance in Beet Armyworm in Sichuan, China and Sublethal Effects of Cyantraniliprole on *Spodoptera exigua* (Hübner) [D]. Chengdu: Sichuan Agricultural University Master Thesis, 2015. [余慧灵. 四川地区甜菜夜蛾抗药性监测及溴氰虫酰胺对其亚致死效应研究 [D]. 成都: 四川农业大学硕士论文, 2015]
- Zhang KL, Li ZQ, Ding J, et al. Sensitivity detection of cyantraniliprole to *Laodelphax striatellus* in Shandong and effect of sublethal cyantraniliprole on detoxification enzyme activities [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2020, 42 (1): 212 – 220. [张凯伦, 李忠芹, 丁杰, 等. 山东省不同地区灰飞虱对溴氰虫酰胺的敏感性及其亚致死剂量溴氰虫酰胺对灰飞虱解毒酶活性的影响 [J]. 环境昆虫学报, 2020, 42 (1): 212 – 220]
- Zhang R. Effects of Host Plants on Enzymes of *Oxya chinensis* (Thunberg) and Its Susceptibility to Malathion [D]. Taiyuan: Shanxi University Master Thesis, 2008. [张睿. 寄主植物对中华稻蝗相关酶系及药剂敏感性的影响 [D]. 太原: 山西大学硕士论文, 2008]
- Zhu GD, Luo Y, Zhao HP, et al. Effects of feeding on different host plants and diets on *Bradysia odoriphaga* population parameters and tolerance to heat and insecticides [J]. *Journal of Economic Entomology*, 2017, 110 (6): 2371 – 2380.
- Zhu XZ, Ge 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]