

# 亚致死浓度虫螨腈对番茄潜叶蛾生长发育及酶活的影响

李冬桂, 彭 晨, 马睿馨, 陈亚平, 桂富荣, 孙仲享\*

(云南农业大学植物保护学院, 云南生物资源保护与利用国家重点实验室, 昆明 650201)

**摘要:** 为明确虫螨腈对番茄潜叶蛾 *Tuta absoluta* 亲代 (F<sub>0</sub>) 及子一代 (F<sub>1</sub>) 的亚致死效应, 以及探究番茄潜叶蛾 F<sub>0</sub> 和 F<sub>1</sub> 中解毒酶和保护酶系对亚致死浓度虫螨腈的响应情况。本研究采用浸叶法测定虫螨腈对番茄潜叶蛾的毒力, 通过生物测定分析了亚致死浓度虫螨腈 LC<sub>25</sub> 对番茄潜叶蛾 F<sub>0</sub> 和 F<sub>1</sub> 生长发育的影响, 并测定了虫螨腈 LC<sub>25</sub> 浓度处理后番茄潜叶蛾体内的解毒酶系和保护酶系的活力变化。研究发现, 虫螨腈对番茄潜叶蛾 2 龄幼虫的生物活性较高, LC<sub>50</sub> 为 1.33 mg/L。亚致死浓度虫螨腈 LC<sub>25</sub> 处理后番茄潜叶蛾 F<sub>0</sub> 产卵量显著下降, F<sub>1</sub> 的蛹重显著降低, 蛹期和成虫前期显著延长。在解毒酶方面, 亚致死浓度的虫螨腈对番茄潜叶蛾 F<sub>0</sub> 的谷胱甘肽-S-转移酶 (GST) 和多功能氧化酶 (MFO) 表现为抑制作用, 羧酸酯酶 (CarE) 没有明显变化; 虫螨腈 LC<sub>25</sub> 浓度对 F<sub>1</sub> 的 GST 和 MFO 有诱导作用, 其中 GST 诱导作用最强, 而 CarE 作用不明显。在保护酶方面, 亚致死浓度的虫螨腈仅对 F<sub>0</sub> 番茄潜叶蛾过氧化氢酶 (CAT) 有诱导作用, 而超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化物酶 (POD) 无变化; 虫螨腈 LC<sub>25</sub> 浓度对 F<sub>1</sub> 的 CAT、POD 和 SOD 作用不明显。虫螨腈 LC<sub>25</sub> 浓度显著影响番茄潜叶蛾的生长发育和繁殖, 且能显著影响其体内部分解毒酶和保护酶的活性。因此, 本研究为促进合理使用虫螨腈防治番茄潜叶蛾提供了有价值的参考。

**关键词:** 番茄潜叶蛾; 虫螨腈; 亚致死效应; 解毒酶; 保护酶

中图分类号: Q968.1;

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858(2024)06-0000-00

## Effects of sublethal concentrations chlorfenapyr on growth, development and enzyme activity of *Tuta absoluta*

LI Dong-Gui, PENG Chen, MA Rui-Xin, CHEN Ya-Ping, GUI Fu-Rong, SUN Zhong-Xiang\*  
(State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Bioresources in Yunnan, Plant Protection College of Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

**Abstract:** In order to evaluate the sublethal effects of chlorfenapyr on F<sub>0</sub> generation and progeny

基金项目: 国家重点研发计划 (2021YFD1400200)

作者简介: 李冬桂, 女, 硕士研究生, 研究方向为入侵物种的基础生物学, E-mail: m18376834311@163.com

\*通讯作者 Author for correspondence: 孙仲享, 男, 博士, 副教授, 研究方向为入侵害虫灾变机理与防控, E-mail: szx@ynau.edu.cn

收稿日期 Received: 2024-07-08; 接受日期 Accepted: 2024-09-24

(F<sub>1</sub> generation) of *Tuta absoluta* and to explore the response of detoxification enzymes and protective enzymes in F<sub>0</sub> and F<sub>1</sub> of *T. absoluta* to chlorfenapyr. This study used the leaf soaking method to determine the toxicity of chlorfenapyr to *T. absoluta*, and the sublethal effects of LC<sub>25</sub> exposure to chlorfenapyr on growth and development of F<sub>0</sub> and F<sub>1</sub> generations of *T. absoluta* were analyzed by bioassay and the changes on F<sub>0</sub> generation and progeny (F<sub>1</sub> generation) of *T. absoluta* of detoxification enzymes and protective enzymes in the body after LC<sub>25</sub> treatment were determined. The results showed that the activity of chlorfenapyr to the 2<sup>nd</sup> instar larvae of *T. absoluta* was high with the LC<sub>50</sub> value of 1.33 mg/L. The number of eggs laid in the sublethal pesticide concentrations LC<sub>25</sub> chlorfenapyr significantly reduced of F<sub>0</sub> generation. Exposure to sublethal pesticide concentrations reduced the weight of F<sub>1</sub> pupae, significantly prolonged the pupal period and total pre-oviposition period. In terms of detoxification enzymes, there was no significant change in carboxylesterase (CarE) activity, but glutathione S-transferase activity (GSTs) and Mixed-function oxidase (MFO) were distinctly inhibited by sublethal concentrations of chlorfenapyr on F<sub>0</sub> generation. There was no significant CarE activity compared with the control, but GSTs and MFO were distinctly increased by sublethal concentrations of chlorfenapyr on F<sub>1</sub>. In terms of protective enzymes, the sublethal concentration of chlorfenapyr significantly no significant the activities of POD and SOD on F<sub>0</sub> generation in *T. absoluta*, while there was induced effect on the activity of CAT and the three protective enzymes CAT, POD and SOD on F<sub>0</sub> generation. In summary, chlorfenapyr at the sublethal concentrations can significantly affect the growth and development of *T. absoluta* and the activity of some detoxification enzymes and protective enzymes in vivo. Therefore, this study provided valuable information for promoting the rational use of chlorfenapyr for controlling *T. absoluta*.

**Key words :** *Tuta absoluta*; chlorfenapyr; sublethal effect; detoxification enzyme; protective enzyme

番茄潜叶蛾 *Tuta absoluta* (Meyrick), 隶属鳞翅目 Lepidoptera 麦蛾科 Gelechiidae, 又名番茄潜麦蛾, 是一种破坏茄科作物, 特别是番茄的重大入侵性害虫 (Desneux *et al.*, 2011)。该虫起源于南美洲, 严重危害时甚至能造成番茄减产 80%~100% (Desneux *et al.*, 2010; 张润志, 2019)。它主要以幼虫危害, 偏好番茄, 但也会将半数的卵产在其他茄科植物上进行发育 (Roditakis *et al.*, 2015; 张桂芬等, 2018)。早在 20 世纪 60 年代起, 番茄潜叶蛾在南美洲不同国家地区发现, 并被认为是茄科作物上的极具危害性的入侵物种 (Barrientos *et al.*,

1998)。20 世纪 90 年代，它在巴西番茄生产区爆发虫害，成为该地区一种难以控制的害虫（Desneux *et al.*, 2010; Silva *et al.*, 2021）。目前，番茄潜叶蛾已扩散至欧洲、南美洲、非洲、中美洲和亚洲的 80 多个国家以及地区（Biondi *et al.*, 2017）。自 2017 年 8 月在中国新疆伊犁的露地番茄上首次发现其危害后，又在云南临沧发现其为害保护地番茄（张桂芬等，2019）。5 年间，番茄潜叶蛾不断扩散，已危害中国 13 个省份种植的茄科作物，且范围仍在不断扩大（张桂芬等，2022）。根据 MaxEnt 预测，番茄潜叶蛾将会在中国非适生区进行定殖，这将严重危害中国的番茄产业（罗恒毅等，2022）。

当前，国内外在防治番茄潜叶蛾的策略上，仍以化学杀虫剂为主。然而，田间施药后，由于多种非生物环境因子的影响，化学药剂的毒力逐渐衰减至亚致死水平，这一现象诱发了部分昆虫个体产生亚致死效应（Lee, 2000）。农药的亚致死效应是一个复杂的现象，其潜在的后果可能存在跨代传递，影响目标害虫及其后代的生存能力、发育、繁殖力、取食、行为等（韩文素等，2011）。亚致死浓度虫螨脲对螟黄赤眼蜂 *Trichogramma chilonis* Ishii F<sub>0</sub> 的成虫寿命和繁殖力无显著影响，但显著降低了 F<sub>1</sub> 后代雌性比例（Wang *et al.*, 2012）。同样，斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 在虫螨脲亚致死剂量处理后，其生长发育受到严重抑制（刘迪等，2022）。虫螨脲亚致死剂量可以使等钳蠊 *Blattisocius dentriticus* F<sub>0</sub> 代雌成虫寿命和产卵期缩短，而产卵量和卵孵化率无明显变化（杨娟生等，2020）。Taleh 等（2022）研究了印楝素、甲氨基阿维菌素苯甲酸盐、高效氯氟氰菊酯、吡虫啉和噻虫啉亚致死浓度对番茄潜叶蛾的影响，发现所选药剂对番茄潜叶蛾的生长发育产生不同程度的影响。有报道称虫螨脲在防治中番茄潜叶蛾中有较好的效果（李晓维等，2022），但虫螨脲亚致死剂量对番茄潜叶蛾生长发育的影响却鲜有报道。

昆虫对杀虫剂的敏感性降低通常涉及多种机制，包括利用保护酶来对外来有害物质的进行防御，以及通过解毒酶对农药进行调节代谢（Van Leeuwen & Dermauw, 2016）。已有研究表明，韭菜迟眼蕈蚊 *Bradysia odoriphaga* 经虫螨脲胁迫 24 h 后，其 GST、CarE 和 MFO 的酶活发生变化（Zhao *et al.*, 2018）。类似地，CYP450 和 GST 参与了螟黄赤眼蜂对氯虫苯甲酰胺的解毒代谢过程（朱文雅等，2024）。此外，氯虫苯甲酰胺胁迫下能够诱导草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 体内 SOD 和 POD 保护酶上升（李浩等，2021）。然而，在李晓维等（2022）的研究中，探讨了番茄潜叶蛾实验室敏感种群和新疆抗性种群对氯虫苯甲酰胺反应，但发现 CYP450, GST 和 CarE 活性无显著差异。至于虫螨脲对番茄潜叶蛾解毒酶和保护酶的影响，目前尚未见报道。

在本研究中，首先分析了虫螨脲亚致死浓度对番茄潜叶蛾的生长发育的影响。然后，通

过测定番茄潜叶蛾亲代和子代在虫螨腈亚致死浓度处理后解毒酶和保护酶的活性的变化。本研究揭示了虫螨腈对番茄潜叶蛾的亚致死作用,并探讨该害虫如何通过解毒酶和保护酶来应对虫螨腈,研究结果对虫螨腈在茄科作物中的合理使用和有效防治番茄潜叶蛾提供了有价值的参考。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 试验材料

供试虫源:番茄潜叶蛾种群于2023年3月采自云南省玉溪市新平县新化乡(105°51'54"E, 24°07'05"N),将采集到的野外种群置于人工气候箱,温度26°C±1°C, RH 50%~60%,光照周期16 L : 8 D 中饲养。

供试植物:大粉番茄购于寿禾种业欣然公司,在实验室温室大棚栽种两周,待长到30 cm 剪下叶片用于饲喂番茄潜叶蛾。

### 1.2 药剂及试剂

97%虫螨腈原药,青岛瑞丰科特化学品有限公司。昆虫多功能氧化酶(MFO)ELISA检测试剂盒,上海酶联生物科技有限公司;谷胱甘肽-S-转移酶(GST)、羧酸酯酶(CarE)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性检测试剂盒和双缩脲(BCA)蛋白质含量检测试剂盒,南京建成有限公司。

### 1.3 生物测定

采用浸叶法处理测定虫螨腈对番茄潜叶蛾幼虫的生物活性。本研究基于杀虫剂抗性行动委员会(Insecticide Resistance Action Committee, IRAC)第22号方法进行改进,采用浸叶法测定番茄潜叶蛾云南种群对虫螨腈的敏感性(Roditakis *et al.*, 2013)。虫螨腈原药先用DMSO溶解,用0.1% Triton X-100 配制成高浓度母液,将母液稀释配成5个浓度(0.5、1、2、4、10 mg/L),以0.1% Triton X-100 ddH<sub>2</sub>O 为对照组。将番茄叶片浸泡于上述浓度15 s,取出放入自制养虫盒中(18×12×8 cm<sup>3</sup>),晾干,叶柄处使用浸湿棉花包裹进行保湿,然后接入大小一致的2龄幼虫。10头为1个处理,3次重复,48 h 记录观察试虫死亡情况,以毛刷轻触试虫身体不动为死亡,计算毒力回归曲线,置信区间,以及LC<sub>25</sub>、LC<sub>50</sub>浓度。

### 1.4 虫螨腈亚致死处理后番茄潜叶蛾 F<sub>0</sub>、F<sub>1</sub> 生物学特性的影响

将虫螨腈分别用含0.1% Triton X-100 ddH<sub>2</sub>O 将稀释至LC<sub>25</sub>,将番茄叶片在LC<sub>25</sub>药液中浸渍15 s,取出,以在0.1% Triton X-100 ddH<sub>2</sub>O 浸泡15 s的番茄叶片为对照,晾干后将60头大小一致、健康的2龄番茄潜叶蛾幼虫分别接入番茄叶片上,人工气候箱中饲养。LC<sub>25</sub>

胁迫 48 h 后，将存活的番茄潜叶蛾挑出（以毛刷轻触幼虫无反应视为死亡），用未经处理的新鲜番茄叶片饲喂，直至羽化为成虫。将雌雄配对，在养虫杯中放入番茄叶片，加入 10% 蜂蜜水浸湿的棉球。次日换取番茄叶片记录产卵量，并及时更换棉球，以保持养虫杯内清洁。记录雌成虫产卵日期、产卵数量、成虫寿命等参数。

取上述各番茄叶片于培养皿（d=60 mm）中，保鲜膜封住培养皿，打孔。挑选 60 头大小一致的 1 龄幼虫（孵化 < 6 h），接入培养皿中进行单头饲养，编号。在解剖镜下每 12 h 记录观察幼虫及蛹的发育历期和蛹重，及时更换番茄叶片，直至成虫羽化。将雌雄配对，及时观察记录雌虫产卵日期、产卵数量、成虫寿命等参数。

### 1.5 虫螨脲亚致死浓度对番茄潜叶蛾酶液制备及酶活测定

番茄潜叶蛾样品准备：用含 0.1% Triton X-100 的双蒸水分别将虫螨脲稀释至 LC<sub>25</sub>，将新鲜番茄叶片在药液中浸渍 15 s 后取出，以在 0.1% Triton X-100 溶液中浸渍 15 s 的番茄叶片为对照，放入养虫盒，晾干，叶柄处使用浸湿棉花包裹，接入足量 2 龄幼虫后于培养箱中培养。处理 48 h 使用离心管收集存活幼虫，10 头为 1 个重复，每处理 3 次重复，立即浸入液氮中，-80℃ 保存。酶活性测定按试剂盒说明进行操作。F<sub>1</sub> 代收集进入 2 龄后 48 h 的幼虫，保存方法同上。

酶液制备：分别取上述番茄潜叶蛾试虫各 10 头，称重，放进 2 mL 离心管内，加入适量的预冷匀浆介质后，加入钢珠（d=2 mm）使用高通量研磨仪粉碎，于 4℃ 下以 3 000 r/min 离心 10 min，取上清液作为待测酶液。

酶活性测定：依据南京建成有限公司试剂盒以及 ELISA 检测试剂盒说明使用 Varioskan LUX 多功能酶标仪（Thermo Fisher Scientific，美国）测定酶活性。

#### 1.5.1 解毒酶活性测定

参照张勇等（2023）的方法测定 GST、MFO 酶活性，CarE 酶活测定按照李浩等(2021)的操作进行。

GST 活性测定：基于 1 mg 组织蛋白在 37℃ 扣除了非酶促反应，将每分钟降低 1 μmol/L GSH 的量被定义为 1 个酶活性单位（U）。

$$\text{GST 活性} = \frac{\text{标准品浓度} \times \text{反应体系稀释倍数}}{\text{样本取样量} \times \text{反应时间} \times \text{待测样本蛋白浓度}} \times \frac{\text{对照 OD} - \text{测定 OD}}{\text{标准 OD} - \text{空白 OD}}$$

MFO 活性测定：测定待测样品和标准品 OD，将待测样品 OD 代入标准品标准曲线直线回归方程，计算样品中昆虫 MFO 活性。

CarE 活性测定：基于 1 mg 组织蛋白在 37℃ 下反应，将每分钟催化吸光值增加 1 定义

为 1 个酶活性单位 (U)。

$$\text{CarE 活性} = \frac{(\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \times \text{反应体系总体积}}{\text{待测样品蛋白浓度} \times \text{样品取样量} \times \text{反应时间}}$$

$$\Delta A: \text{OD}_{190\text{s}} - \text{OD}_{10\text{s}}$$

### 1.5.2 保护酶活性测定

参照张勇等 (2023) 的方法测定 SOD、POD、CAT 保护酶活性。

SOD 活性测定: 在 SOD 抑制率达到 50% 时, 将对应的酶量定义为 1 个酶活性单位 (U)。

$$\text{SOD 抑制率} = \frac{(\text{对照 OD} - \text{对照空白 OD}) - (\text{测定 OD} - \text{测定空白 OD})}{\text{对照 OD} - \text{对照空白 OD}} \times 100\%$$

$$\text{SOD 活性} = \frac{\text{SOD 抑制率} \times \text{反应体系稀释倍数}}{50\% \times \text{待测样本蛋白浓度}}$$

POD 活性测定: 基于 1 mg 组织蛋白在 37°C 下反应, 将每分钟催化 1 μg 底物的酶量定义为 1 个酶活性单位 (U)。

$$\text{POD 活性} = \frac{\text{反应液总体积} \times 1000}{\text{样本量} \times \text{反应时间} \times \text{待测样本蛋白浓度}} \times \frac{\text{测定 OD} - \text{空白 OD}}{12 \times \text{比色光径}}$$

CAT 酶活性测定: 基于 1 mg 组织蛋白每秒钟分解 1 μmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的量, 将其定义为 1 个酶活性单位 (U)。

$$\text{CAT 活性} = \frac{(\text{对照 OD} - \text{测定 OD}) \times 271}{(60 \times \text{取样量}) \times \text{待测样本蛋白浓度}}$$

### 1.5.3 蛋白质含量测定

BCA 蛋白含量测定:

$$\text{待测样品蛋白浓度} (\mu\text{g/mL}) = \text{标准品浓度} \times \frac{\text{测定 OD} - \text{空白 OD}}{\text{标准 OD} - \text{空白 OD}} \times \text{样品稀释倍数}$$

## 1.6 数据处理

采用 DPS 进行卡方检验计算致死中浓度等毒力参数, 确定亚致死浓度 LC<sub>25</sub>、LC<sub>50</sub> 及其 95% 的置信区间。通过 SPSS 27.0 软件对其生命表参数进行独立样本 t 检验分析 (P < 0.05)。

## 2 结果与分析

### 2.1 虫螨腈对番茄潜叶蛾的室内毒力测定

虫螨腈对番茄潜叶蛾 2 龄幼虫的致死中浓度 LC<sub>50</sub> 为 1.33 mg/L, 亚致死浓度 LC<sub>25</sub> 为 0.78 mg/L, 其结果如表 1 所示。其中虫螨腈 LC<sub>25</sub> 用于后续研究虫螨腈亚致死剂量对番茄潜叶蛾实验室种群生长发育及酶活变化的影响。

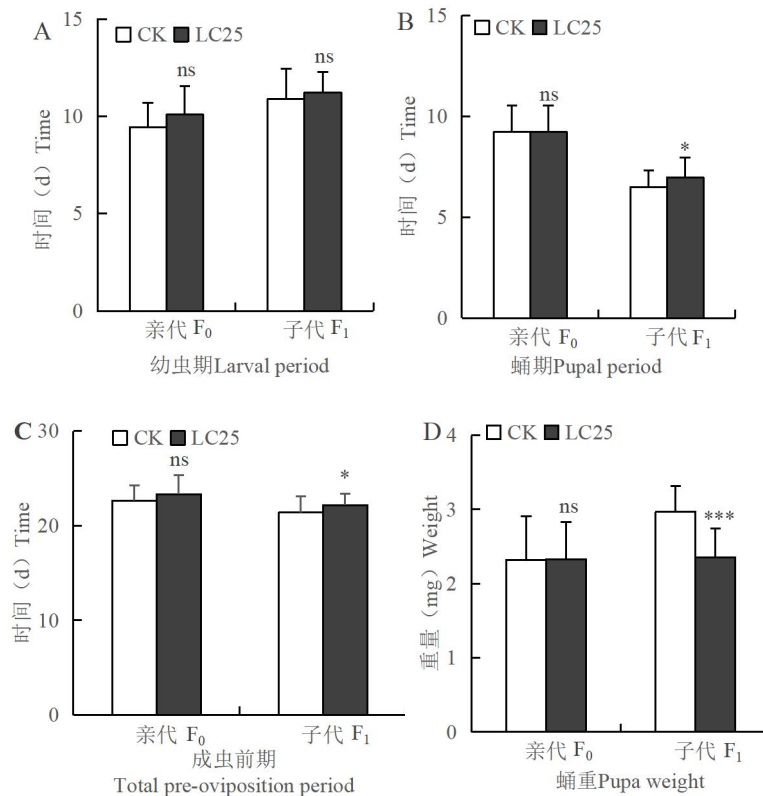
表 1 虫螨腈对番茄潜叶蛾 2 龄幼虫的毒力测定

Table 1 Toxicity of chlorfenapyr to the 2<sup>nd</sup> instar larvae of *Tuta absoluta*

	LC <sub>25</sub> (mg/L)	LC <sub>50</sub> (mg/L)	LC <sub>95</sub> (mg/L)		自由度 df	P 值	
斜率±标准 误 Slope±SE	(95%置信区间)	(95%置信区间)	(95%置信区间)	卡方值 $\chi^2$	degree of freedom	P-value	
	(95% Confidence limits)	(95% Confidence limits)	(95% Confidence limits)	Chi-square			
	2.90 ± 0.44	0.78 (0.48~1.05)	1.33 (0.97~1.67)	4.92 (3.73~7.67)	0.68	3	0.88

## 2.2 虫螨腈 LC<sub>25</sub> 胁迫下的番茄潜叶蛾生物学特性的影响

虫螨腈 LC<sub>25</sub> 对番茄潜叶蛾的生物学特性有一定影响。虫螨腈 LC<sub>25</sub> 胁迫番茄潜叶蛾 48 h 后, 番茄潜叶蛾亲代 F<sub>0</sub> 和子代 F<sub>1</sub> 的幼虫期没有显著性影响 (图 1-A)。然而, 虫螨腈 LC<sub>25</sub> 浓度显著延长了子代 F<sub>1</sub> 的蛹期 ( $P < 0.05$ ), 而对亲代 F<sub>0</sub> 的蛹期无显著影响 (图 1-B)。对于成虫前期, 经过虫螨腈 LC<sub>25</sub> 浓度处理后, 显著影响了子代 F<sub>1</sub> 的成虫前期 ( $P < 0.05$ ), 而亲代 F<sub>0</sub> 无变化 (图 1-C)。经虫螨腈 LC<sub>25</sub> 浓度处理后, 子代 F<sub>1</sub> 蛹重极显著降低 ( $P < 0.001$ ), 亲代 F<sub>0</sub> 无显著性影响 (图 1-D)。当虫螨腈 LC<sub>25</sub> 浓度处理后, F<sub>0</sub> 产卵量显著下降 ( $P < 0.01$ ), 而子代 F<sub>1</sub> 的产卵量没有明显变化 (图 1-E)。



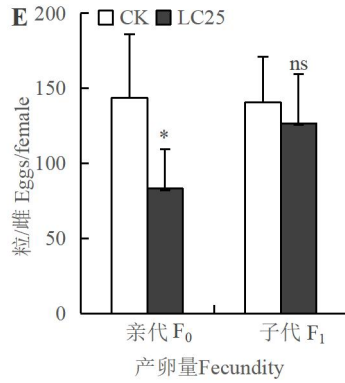


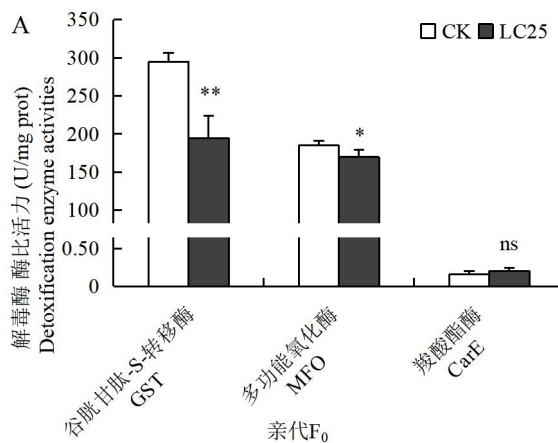
图1 虫螨腈 LC<sub>25</sub>对 F<sub>0</sub>代和 F<sub>1</sub>代幼虫期 (A)、蛹期 (B)、成虫前期 (C) 蛹重 (D) 和产卵量 (E) 的影响

Fig. 1 Effects of LC<sub>25</sub> chlorfenapyr on larval period (A), pupal period(B), total pre-oviposition period (C) pupa weight (D) and fecundity (E) in F<sub>0</sub> and F<sub>1</sub> generations of *Tuta absoluta*

注: \*, 具有显著差异 ( $P < 0.05$ , Student's t 检验); \*\*\*, 具有极显著差异 ( $P < 0.001$ , Student's t 检验); ns, 无显著差异 ( $P > 0.05$ , Student's t 检验)。下同。Note: \*, Significant differences ( $P < 0.05$ , Student's t-test); \*\*\*, Extremely significant differences ( $P < 0.001$ , Student's t-test); ns, No significant differences ( $P > 0.05$ , Student's t-test). The same applies below.

### 2.3 虫螨腈 LC<sub>25</sub> 亚致死剂量下番茄潜叶蛾解毒酶活性影响

虫螨腈 LC<sub>25</sub> 剂量处理番茄潜叶蛾 2 龄幼虫 48 h 后, F<sub>0</sub> 和 F<sub>1</sub> 的 GST, MFO 和 CarE 3 种解毒酶的酶活力均有不同程度的变化。其中, 经虫螨腈 LC<sub>25</sub> 剂量胁迫后亲代 F<sub>0</sub> 的 GST ( $P < 0.01$ ) 和 MFO ( $P < 0.05$ ) 酶比活力较对照 CK 相比显著下降, 说明 GST 和 MFO 受到抑制, 而 CarE 酶比活力较对照 CK 相比无显著性变化 (图 2-A)。子代 F<sub>1</sub> 的 GST ( $P < 0.05$ ) 和 MFO ( $P < 0.01$ ) 较对照 CK 相比酶比活力显著上升, 表明在 GST 被诱导参与代谢, 而 CarE 的酶比活力无变化 (图 2-B)。





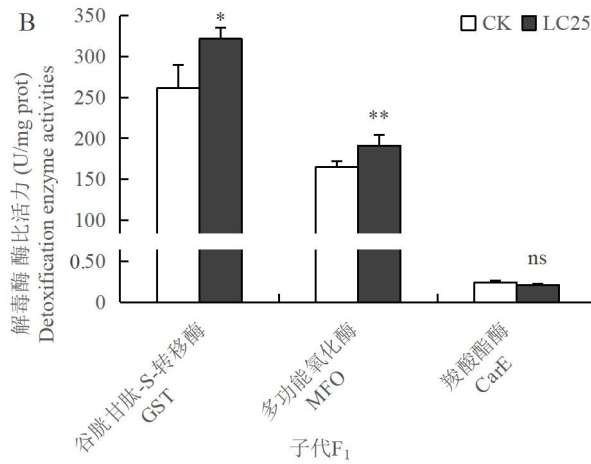
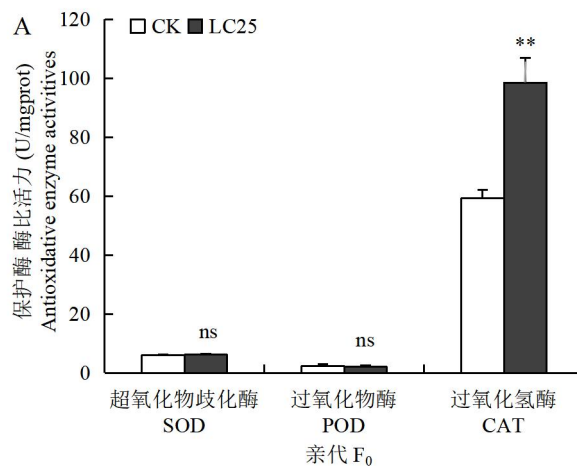


图2 虫螨腈亚致死剂量对番茄潜叶蛾亲代 F<sub>0</sub> (A) 和 F<sub>1</sub> (B) 的解毒酶活性影响 (平均数±标准误)

Fig. 2 Sublethal effects of chlorfenapyr on detoxified enzyme activity of F<sub>0</sub> (A) and F<sub>1</sub> (B) generations of *Tuta absoluta* (Mean ± SE)

#### 2.4 虫螨腈 LC<sub>25</sub> 亚致死剂量下番茄潜叶蛾保护酶活性影响

虫螨腈亚致死剂量 LC<sub>25</sub> 对番茄潜叶蛾 2 龄幼虫也有一定的影响。虫螨腈处理 48 h 后, 亲代 F<sub>0</sub> 的保护酶 CAT 的酶比活力与对照相比显著上升 ( $P < 0.01$ ), 说明 CAT 的防御功能被激活, 而 SOD 和 POD 较对照相比无明显变化 (图 3-A)。在虫螨腈亚致死浓度 LC<sub>25</sub> 处理组后, 子代 F<sub>1</sub> 的 SOD 酶比活力与对照相比有所下降但无显著性, 而 POD 和 CAT 与对照组 CK 相比均无显著性差异 (图 3-B)。



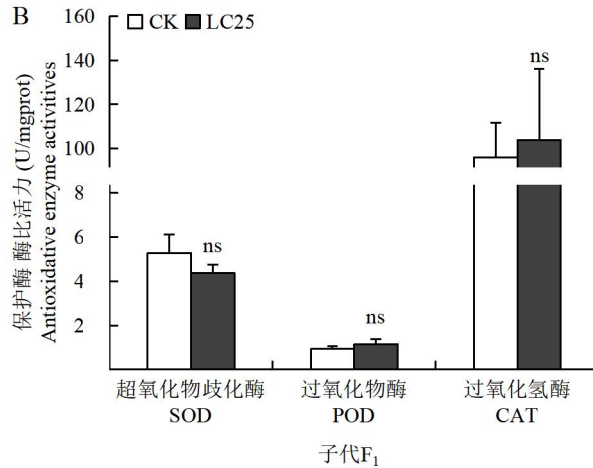


图3 虫螨腈亚致死剂量对番茄潜叶蛾亲代 F<sub>0</sub> (A) 和 F<sub>1</sub> (B) 的保护酶活性影响 (平均数±标准误)

Fig. 3 Sublethal effects of chlorfenapyr on protective enzyme activity of F<sub>0</sub> (A) and F<sub>1</sub> (B) generations of *Tuta absoluta* (Mean ± SE)

### 3 结论与讨论

虫螨腈是一种芳基吡咯衍生物,具有较高的生物活性、广泛的杀虫效果和独特的作用模式,已成为世界范围内广泛使用的杀虫剂 (Black *et al.*, 1994)。本研究利用浸叶法测定了虫螨腈对番茄潜叶蛾 2 龄幼虫的室内毒力,结果显示其 LC<sub>50</sub> 为 1.33 mg/L,表明虫螨腈对番茄潜叶蛾具有较高的胃毒作用。测定结果与王婷婷等 (2014) 关于小菜蛾 *Plutella xylostella* 暴露于虫螨腈的室内毒力研究结果相似,显示出虫螨腈具有较好的防治效果,因此通过评估虫螨腈对番茄潜叶蛾室内毒力效果,为探究番茄潜叶蛾的田间防治具有重要意义。

杀虫剂因其对害虫的强致死作用而广受关注。然而,杀虫剂在实际使用过程中,会形成亚致死剂量,这些剂量会不同程度地影响昆虫的生长发育、生态学行为和生殖等,进而导致昆虫种群动态的变化 (Havasi *et al.*, 2022)。本试验研究了番茄潜叶蛾在暴露于虫螨腈亚致死浓度下的生物学特性,研究表明,虫螨腈亚致死剂量影响了番茄潜叶蛾从亲代 F<sub>0</sub> 到子代 F<sub>1</sub> 各项生物学指标,其亚致死效应可能表现为有害的抑制或刺激作用。具体而言,虫螨腈 LC<sub>25</sub> 处理后,番茄潜叶蛾亲代 F<sub>0</sub> 和子代 F<sub>1</sub> 幼虫发育历期、蛹期以及成虫前期出现了延迟现象,这可能存在亚致死效应,表明了虫螨腈亚致死浓度对番茄潜叶蛾幼虫的生长发育具有一定的抑制作用。这一结果与虫螨腈亚致死胁迫下对木瓜粉蚧 *Paracoccus marginatus* 的生物学特性的影响一致,即较对照组相比,木瓜粉蚧的 F<sub>0</sub> 到 F<sub>3</sub> 代若虫时间延长,成虫前期也出现了延迟 (Li *et al.*, 2022)。蛹重作为反映昆虫抗逆性和环境适应的重要指标 (刘欢等, 2021; 朱丽珊等, 2024), 在本研究中也受到关注。虫螨腈 LC<sub>25</sub> 胁迫下的番茄潜叶蛾其亲代的蛹

重无显著性影响，但子代  $F_1$  的蛹重较对照组相比显著降低。此外，亲代  $F_0$  和子代  $F_1$  的产卵量均低于对照组，尤其在亲代产卵量显著降低。这与 Jia 等（2022）关于虫螨腈亚致死胁迫下小菜蛾研究结果相似，即虫螨腈亚致死浓度导致小菜蛾雌蛹和雄蛹的蛹重降低， $F_0$  的产卵量都显著性下降；然而，在小菜蛾的研究中， $F_1$  代雌性繁殖力在对照组与  $LC_1$  组间无显著性差异， $LC_{10}$  显著提高了雌性生殖力，而  $LC_{30}$  显著降低了其生殖力。因此，亚致死浓度的杀虫剂通过作用于昆虫的生命表参数，对昆虫的耐药性发展、迁移、种群动态变化等产生深远影响（Costa *et al.*, 2014; Rix *et al.*, 2014; Odemer *et al.*, 2018），研究虫螨腈对番茄潜叶蛾亚致死效应的影响，能够进一步监测番茄潜叶蛾种群动态，对可持续性发展具有重要的现实意义。

杀虫剂可以影响昆虫的发育历期、繁殖力、成虫寿命等种群参数。同时，它们也可以影响解毒酶的活性（Leeuwen *et al.*, 2006）。解毒酶作为昆虫体内重要的酶，能够介导拟除虫菊酯类、双酰胺类、氨基甲酸酯类等杀虫剂产生抗药性（徐莉等，2020）。在研究氯虫苯甲酰胺造成生物体内活性氧 ROS 的积累中发现，由于生物中的 GSH 消耗，其体内会显著抑制 GST 的产生（Rodrigues *et al.*, 2015）。本试验中，经虫螨腈亚致死剂量胁迫 48 h 后，亲代 GST 的酶比活力显著下降，其结果与 Kinareikina 等（2023）在家蝇中的研究一致，均表明 GST 参与了代谢农药的过程。此外，亲代 MFO 的酶比活力也显著降低，与鲁冰瑜等（2020）在印楝素亚致死浓度胁迫下的结果相似，进一步证明 MFO 参与了解毒代谢过程。本试验发现 CarE 被诱导上升，但诱导效果不明显。有趣的是，本试验结果显示亲代的 GST、MFO 的酶比活力相较于对照组有所下降，然而在子代中却发现这两种酶出现了上升趋势。这一现象与 Pan 等人（2023）研究柑橘全爪螨 *Panonychus citri* 暴露于亚致死哒螨灵多代之后 P450 表达显著上升结果相似，表明药剂多代胁迫之后昆虫能够通过解毒酶去代谢农药抵抗不良环境。

昆虫体内存在自由基（ $O_2^-$ 、 $-OH$  和  $H_2O_2$ ），当昆虫在遭受外源毒物时，其体内的清除系统可能会出现故障（Allen and balin, 1989），进而对虫体产生毒害作用。然而，SOD、POD 和 CAT 可通过清除生物体内多余的活性氧自由基，以此来保护虫体免受外源有毒物质的侵害（Bashan *et al.*, 2009），通过测定保护酶活性来预测靶标昆虫对杀虫剂的抗药性也已经成为毒理学重要的研究内容（丁文娟等，2023）。Li 等（2022）研究发现，虫螨腈处理 2 龄木瓜粉蚧若虫后，其酶活性测定结果显示，虫螨腈能够显著抑制 CAT 和 POD 活性，同时激活 SOD，这推测 SOD、CAT、POD 在木瓜粉蚧的自卫机制中发挥着重要作用。本研究则进一步探讨了亚致死浓度虫螨腈处理对亲代  $F_0$  番茄潜叶蛾抗氧化酶活性的影响。结果

显示, 亲代 F<sub>0</sub> 番茄潜叶蛾 SOD、POD 活性无明显变化, 表明这两种保护酶在亲代并未发挥作用。而 CAT 较对照相比显著上升, 这与氯虫苯甲酰胺致死亚剂量处理 3 龄斜纹夜蛾幼虫后, 昆虫体内 CAT 活性提高 (李浩等, 2021) 相符合, 说明番茄潜叶蛾在受到虫螨脲亚致死浓度胁迫后, CAT 可能发挥了重要的抗氧化作用。然而在子代 F<sub>1</sub> 中, 保护酶 SOD、CAT 和 POD 活性无明显变化, 这说明保护酶在子代中可能发挥的作用较小。

综上, 虫螨脲作为防治番茄潜叶蛾的重要杀虫剂, 研究其对番茄潜叶蛾的亚致死效应以及诱导后解毒酶和保护酶的变化, 有助于我们科学地使用虫螨脲防治害虫, 并有效监控番茄潜叶蛾对虫螨脲的抗药性的产生。然而, 本试验目前仅测定了短期胁迫下的番茄潜叶蛾的生长发育与酶比活力, 要确切了解这些酶是否参与了番茄潜叶蛾对虫螨脲的抗药性机制, 还需进一步的深入研究。

### 参考文献 (References)

- Allen RG, Balin AK. Oxidative influence on development and differentiation: An overview of a free radical theory of development [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 1989, 6 (6): 631-661.
- Barrientos ZR, Apablaza HJ, Norero SA, *et al.* Base temperature and thermal constant of development of tomato moth, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) [J]. *Agricultural Science and Research*. 1998, 25 (3): 133-137.
- Bashan N, Kovsan J, Kachko I, *et al.* Positive and negative regulation of insulin signaling by reactive oxygen and nitrogen species [J]. *Physiological Reviews*, 2009, 89 (1): 27-71.
- Biondi A, Guedes RNC, Wan FH, *et al.* Ecology, worldwide spread, and management of the invasive South American tomato pinworm, *Tuta absoluta*: Past, present, and future [J]. *Annual Review of Entomology*, 2017, 63 (1): 239-258.
- Black BC, Hollingworth RM, Ahammadsahib KI, *et al.* Insecticidal action and mitochondrial uncoupling activity of AC-303, 630 and related halogenated pyrroles [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 1994, 50 (2): 115-128.
- Costa MA, Moscardini VF, Dacostagontijo P, *et al.* Sublethal and transgenerational effects of insecticides in developing *Trichogramma galloi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae): Toxicity of insecticides to *Trichogramma galloi* [J]. *Ecotoxicology*, 2014, 23 (8): 1399-1408.
- Desneux N, Wajnberg E, Wyckhuys K, *et al.* Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: Ecology, geographic expansion and prospects for biological control [J]. *Journal of Pest Science*, 2010, 83 (3): 197-215.
- Desnux N, Luna MG, Guillemaud T, *et al.* The invasive South American tomato pinworm, *Tuta absoluta*, continues to spread in Afro-Eurasia and beyond: The new threat to tomato world production [J]. *Journal of Pest Science*, 2011, 84 (4): 403-408.
- Ding WJ, Du RS, Li ZH, *et al.* The difference bioactivities of triflumezopyrim and effect of triflumezopyrim on protective and detoxification enzyme activities to *Laodelphax striatellus* [J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2023, 54 (12): 3581-3590. [丁文娟,

- 杜若诗, 李召阁, 等. 三氟苯嘧啶对灰飞虱的活性及代谢酶和保护酶活性的影响 [J]. 南方农业学报, 2023, 54 (12): 3581-3590]
- Han WS, Wang LH, Sun HH, *et al.* Research progress on sublethal effects of insecticides on insect [J]. *China Plant Protection*, 2011, 31 (11): 15-20. [韩文素, 王丽红, 孙姗姗, 等. 杀虫剂对昆虫的亚致死效应的研究进展 [J]. 中国植保导刊, 2011, 31 (11): 15-20]
- Havasi M, Zahedi GA, Bandani A. The sublethal concentration of cyflumetofen adversely affect demographic parameters of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): Using age-stage, two-sex life tables [J]. *International Journal of Acarology*, 2022, 48 (4-5): 331-337.
- Jia BT, Zhang JL, Hong SS, *et al.* Sublethal effects of chlorfenapyr on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) [J]. *Pest Management Science*, 2022, 79 (1): 88-96.
- Kinareikina A, Silivanova E. Impact of insecticides at sublethal concentrations on the enzyme activities in adult *Musca domestica* L [J]. *Toxics*, 2023, 11 (1): 47.
- Lee CY. Sublethal effects of insecticides on longevity, fecundity and behaviour of insect pests: A review [J]. *Journal of Biosciences*, 2000, 11 (1): 107-112.
- Leeuwen TV, Pottelberge SV, Tirry L. Biochemical analysis of a chlorfenapyr-selected resistant strain of *Tetranychus urticae* Koch [J]. *Pest Management Science: Formerly Pesticide Science*, 2006, 62 (5): 425-433.
- Li H, Chen YP, Lu ZH, *et al.* Response comparison of protective and detoxification enzymes in *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) and *Spodoptera litura* (Fabricius) larvae to two insecticides [J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2021, 52 (3): 559-569. [李浩, 陈亚平, 鲁智慧, 等. 草地贪夜蛾和斜纹夜蛾幼虫体内保护酶及解毒酶对 2 种杀虫剂的响应比较 [J]. 南方农业学报, 2021, 52 (3): 559-569]
- Li JY, Chen YT, Wang QY *et al.* Sublethal and transgenerational toxicities of chlorfenapyr on biological traits and enzyme activities of *Paracoccus marginatus* (Hemiptera: Pseudococcidae) [J]. *Insects*, 2022, 13 (10): 874.
- Li XW, Ma L, lv YB. Susceptibility of Xinjiang and Yunnan populations of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) to six insecticides and its relationship with detoxification enzyme activities [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2022, 65 (8): 1010-1017. [李晓维, 马琳, 吕要斌. 新疆和云南番茄潜叶蛾种群对六种杀虫剂的敏感性及其与解毒酶活性的关系 [J]. 昆虫学报, 2022, 65 (8): 1010-1017]
- Liu BM, Wang F, Liu R, *et al.* Effects of sublethal dose cyantraniliprole on feeding behavior and TYLCV transmission of *Bemisia tabaci* MED [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2021, 43 (3): 537-544. [刘佰明, 王芳, 刘茹, 等. 亚致死剂量溴氰虫酰胺对 MED 烟粉虱取食行为及传播 TYLCV 的影响 [J]. 环境昆虫学报, 2021, 43 (3): 537-544]
- Liu D, Shi QP, Zhou YN, *et al.* The sublethal effects of chlorfenapyr on *Spodoptera litura* [J]. *Biological Disaster Science*, 2023, 46 (4): 445-451. [刘迪, 施秋萍, 周亚男, 等. 虫螨腈对斜纹夜蛾的毒力及亚致死效应研究 [J]. 生物灾害科学, 2023, 46 (4): 445-451]
- Liu H, Zhang Y, Chen JL. Feeding preference and adaptability of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) on different wheat

- cultivars in relation to leaf biochemical contents [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2021, 64 (2): 230-239. [刘欢, 张勇, 陈巨莲. 草地贪夜蛾在不同小麦品种上的取食选择性和适应性及其与叶片生物物质含量的关系 [J]. 昆虫学报, 2021, 64 (2): 230-239]
- Lu BY, Li SY, Dong S, *et al.* Effects of sublethal concentration of two insecticides on three detoxification enzymes and protein content of *Aphis glycines* [J]. *Soybean Science*, 2020, 39 (5): 790-796. [鲁冰瑜, 李双宇, 董爽, 等. 两种杀虫剂亚致死浓度对大豆蚜三种解毒酶和蛋白含量的影响 [J]. 大豆科学, 2020, 39 (5): 790-796]
- Luo HY, Wng XS, Zhao XY, *et al.* Analysis of suitability of quarantine pest *Tuta absoluta* in China [J]. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2022, 50 (4): 579-585. [罗恒毅, 王湘稣, 赵雪莹, 等. 检疫害虫番茄潜叶蛾在中国的适生性分析 [J]. 山西农业科学, 2022, 50 (4): 579-585]
- Odemer R, Nilles L, Linder N, *et al.* Sublethal effects of clothianidin and *Nosema spp.* on the longevity and foraging activity of free flying honey bees [J]. *Ecotoxicology*, 2018, 27 (5): 527-538.
- Pan D, Xia MH, Luo QJ, *et al.* Sublethal and transgenerational effects of pyridaben exposure on the fitness and gene expression of *Panonychus citri* [J]. *Pest Management Science*, 2023, 79 (9): 3250-3261.
- Rix RR, Ayyanath MM, Cutler GC. Sublethal concentrations of imidacloprid increase reproduction, alter expression of detoxification genes, and prime *Myzus persicae* for subsequent stress [J]. *Journal of Pest Science*, 2016, 89 (2): 581-589.
- Roditakis E, Skarmoutsou C, Staurakaki M, *et al.* Determination of baseline susceptibility of European populations of *Tuta absoluta* (Meyrick) to indoxacarb and chlorantraniliprole using a novel dip bioassay method [J]. *Pest Management Science*, 2013, 69 (2): 217-227.
- Roditakis E, Vasakis E, Grispu M, *et al.* First report of *Tuta absoluta* resistance to diamide insecticides [J]. *Journal of Pest Science*, 2015, 88: 9-16.
- Rodrigues ACM, Quintaneiro C, Gravato C, *et al.* Life history and biochemical effects of chlorantraniliprole on *Chironomus riparius* [J]. *Science of the Total Environment*, 2015, 508: 506-513.
- Silva GA, Queiroz EA, Arcanjo LP, *et al.* Biological performance and oviposition preference of tomato pinworm *Tuta absoluta* when offered a range of Solanaceous host plants [J]. *Scientific Reports*, 2021, 11 (1): 1153.
- Taleh M, Rafiee DH, Naseri B, *et al.* Comparative lethal and sublethal toxicity of some conventional insecticides against tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) [J]. *Gazi Entomolojik Arastirmalar Dernegi*, 2022, 24 (1): 89-101.
- Van LT, Dermauw W. The molecular evolution of xenobiotic metabolism and resistance in chelicerate mites [J]. *Annual Review of Entomology*, 2016, 61 (1): 475-498.
- Wang DS, He YR, Guo XL, *et al.* Acute Toxicities and Sublethal Effects of Some Conventional Insecticides on *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) [J]. *Journal of Economic Entomology*, 2012, 105 (4): 1157-1163.
- Wang TT, Zhang CN. Effects of chlorfenapyr on detoxifying enzyme activities of diamondback moth, *Plutella xylostella* [J]. *Acta*

- Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2014, 23 (8): 196-200. [王婷婷, 张春妮. 溴虫腈对小菜蛾幼虫解毒酶的影响 [J]. 西北农业学报, 2014, 23 (8): 196-200]
- Xu L, Wang JH, Mei Y, *et al.* Research progress on the molecular mechanisms of insecticides resistance mediated by detoxification enzymes and transporters [J]. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2020, 22 (1): 1-10. [徐莉, 王建华, 梅宇, 等. 解毒酶和转运蛋白介导的害虫抗药性分子机制研究进展 [J]. 农药学报, 2020, 22 (1): 1-10]
- Yang JS, Cong L, Wang CL, *et al.* Effects of sublethal doses of chlorpyrifos and chlorfenapyr on the growth, reproduction and detoxification enzymes of *Blattisocius dentriticus* (Acari: Ascidae) [J]. *Acta entomologica sinica*, 2020, 63 (1): 36-45. [杨娟生, 丛林, 王翠伦, 等. 亚致死浓度溴虫腈和毒死蜱对等钳蠊螨生长繁殖和解毒酶的影响 [J]. 昆虫学报, 2020, 63 (1): 36-45]
- Zhang GF, Liu WX, Wang FH, *et al.* Bioecology, damage and management of the tomato leafminer *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), a worldwide quarantine pest [J]. *Journal of Biosafety*, 2018, 27 (3): 9. [张桂芬, 刘万学, 万方浩, 等. 世界毁灭性检疫害虫番茄潜叶蛾的生物生态学及危害与控制 [J]. 生物安全学报, 2018, 27 (3): 9]
- Zhang GF, Ma DY, Liu WX, *et al.* The arrival of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), in China [J]. *Journal of Biosafety*, 2019, 28 (3): 200-203. [张桂芬, 马德英, 刘万学, 等. 中国新发现外来入侵害虫——南美番茄潜叶蛾(鳞翅目:麦蛾科) [J]. 生物安全学报, 2019, 28 (3): 200-203]
- Zhang GF, Zhang YB, Xian XQ, *et al.* Damage of an important and newly invaded agricultural pest, *Phthorimaea absoluta*, and its prevention and management measures [J]. *Plant Protection*, 2022, 48 (4): 51-58. [张桂芬, 张毅波, 洗晓青, 等. 新发重大农业入侵害虫番茄潜叶蛾的发生为害与防控对策 [J]. 植物保护, 2022, 48 (4): 51-58]
- Zhang Y, Ning X, Xie YX, *et al.* Sublethal effects of broflanilide on *Spodoptera frugiperda* [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2023, 45 (5): 1417-1424. [张勇, 宁旭, 谢云茜, 等. 溴虫氟苯双酰胺对草地贪夜蛾的亚致死效应 [J]. 环境昆虫学报, 2023, 45 (5): 1417-1424]
- Zhang ZR. *Tuta absoluta* (Povolny) larva [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2019, 1 (56): 50. [张润志. 番茄潜叶蛾 *Tuta absoluta* (Povolny) 幼虫 [J]. 应用昆虫学报, 2019, 1 (56): 50]
- Zhao YH, Wang QH, Ding JF, *et al.* Sublethal effects of chlorfenapyr on the life table parameters, nutritional physiology and enzymatic properties of *Bradysia odoriphaga* (Diptera: Sciaridae) [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2018, 148: 93-102.
- Zhu LS, Chen HS, Tian ZY, *et al.* Effects of host plant on the low-temperature tolerance of fully-grown larvae and pupae of *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) [J]. *Plant Protection*, 2024, 50 (1): 165-171. [朱丽珊, 陈红松, 田震亚, 等. 寄主对瓜实蝇老熟幼虫和蛹的低温耐受性的影响 [J]. 植物保护, 2024, 50 (1): 165-171]
- Zhu WY, Fan R, Mei WH, *et al.* Effects of sublethal dosage of chlorantraniliprole on function of parasitism and detoxifying enzymes activity in *Trichogramma chilonis* Ishii [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2024, 46 (5): 1233-1238. [朱文雅, 范睿, 梅文浩, 等. 氯虫苯甲酰胺亚致死剂量对螟黄赤眼蜂寄生功能及主要解毒酶活性的影响 [J]. 环境昆虫学报, 2024, 46 (5):

1233-1238]