

多杀霉素亚致死浓度对棉铃虫幼虫生理及代谢的影响

宋永辉 徐梦超 薛玉莹 魏纪珍 杜孟芳 尹新明 刘晓光* 安世恒

(河南农业大学植物保护学院, 省部共建小麦玉米作物学国家重点实验室, 郑州 450002)

摘要: 为明确田间使用多杀霉素亚致死浓度对棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 幼虫的影响, 用含多杀霉素亚致死浓度 LC_{25} 的人工饲料持续饲喂棉铃虫 3 龄幼虫, 并对饲喂后其体重、取食量、累计蛹化率、蛹发育历期和蛹重等生长发育及脂肪体内甘油三酯(triglyceride, TG)含量和相关基因 *SREBP*、*FAS* 和 *HSL* 表达情况进行测定。结果表明, 多杀霉素对棉铃虫的亚致死浓度 LC_{25} 为 0.21 mg/kg; 多杀霉素亚致死浓度处理 4~6 d 后, 棉铃虫 3 龄幼虫体重分别为 0.065、0.263 和 0.329 g, 较对照显著降低; 处理 6 d 后, 其取食量为 0.082 g, 较对照显著降低; 处理 4~7 d 后, 其累计化蛹率分别为 60.90%、63.20%、65.50% 和 65.50%, 较对照显著降低。多杀霉素亚致死浓度处理后, 棉铃虫蛹发育历期由对照 9.89 d 显著延长至 10.74 d, 单头蛹重为 0.274 g, 显著低于对照的 0.324 g; 其脂肪体 TG 含量较对照显著降低。多杀霉素亚致死浓度处理 24~72 h 后, 参与脂肪酸合成信号通路中重要基因 *SREBP* 和 *FAS* 的相对表达量较对照均显著下调, 而参与脂肪代谢的重要基因 *HSL* 则较对照显著上调。

关键词: 棉铃虫; 亚致死浓度; 多杀霉素; 生长发育; 生理; 代谢; 脂肪体; 相关基因

Effects of sublethal concentration of spinosad on the metabolism and physiology of cotton bollworm *Helicoverpa armigera*

Song Yonghui Xu Mengchao Xue Yuying Wei Jizhen Du Mengfang Yin Xinming
Liu Xiaoguang* An Shiheng

(State Key Laboratory of Wheat and Maize Crop Science, College of Plant Protection, Henan Agricultural University,
Zhengzhou 450002, Henan Province, China)

Abstract: In order to investigate the effects of sublethal doses of pesticides on cotton bollworm *Helicoverpa armigera* in crop fields, the artificial diets mixed with the LC_{25} of biopesticide spinosad were fed from the 3rd instar larva to pupal stage of *H. armigera*. The physiological indexes such as body weight, food consumption weight, the accumulative total pupation rate, developmental duration and pupal weight were observed, and triglyceride (TG) titer, relative expressions of different genes such as *FAS*, *SREBP*, *HSL* associated with the biosynthesis of fatty acids and lipid homeostasis pathways in the fat body were measured. The results showed that sublethal dose of spinosad LC_{25} was 0.21 mg/kg, the body weights of the 3rd instar larvae of *H. armigera* fed with the artificial diets mixed with the LC_{25} of spinosad from the fourth to sixth days were 0.065, 0.263 and 0.329 g, respectively, and the food consumption at the sixth day was 0.082 g, which all decreased compared with the control group. The accumulated pupation rates of the 3rd instar larvae of *H. armigera* fed with the artificial diets mixed with spinosad were 60.90%, 63.20%, 65.50% and 65.50%, respectively, from the 4th to 7th days, which were de-

基金项目: 中科院昆虫发育与进化重点实验室开放课题(2009DP17321425-IDEB-KF-002), 河南省现代农业产业技术体系(S2014-11-G06), 财政部和农业农村部国家现代农业产业技术体系(CARS-27), 西藏入侵害虫风险评估与重要资源昆虫保护利用研究(XZ202001YD0002C)

* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: xgliu2000@aliyun.com

收稿日期: 2021-07-17

creased compared with the control population, and the pupation stage was prolonged from 9.89 d (control) to 10.74 d (fed with the artificial diet mixed with spinosad). The content of TG in fatty tissues was also lower than that of the control from 24 h to 72 h after fed with sublethal concentration of spinosad, and the gene expression levels of *SREBP* and *FAS* were all down-regulated, while *HSL* was up-regulated.

Key words: *Helicoverpa armigera*; sublethal concentration; spinosad; growth and development; physiology; metabolism; fat body; relative gene

棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 属杂食性害虫, 目前在我国新疆棉区和黄淮海夏玉米耕作区为害较为普遍(陆宴辉等, 2018; 潘洪生等, 2018)。各地区在棉铃虫防控方面也有着较大不同, 黄淮海夏玉米主产区种植少量转 Bt 棉、花生和蔬菜等重要经济作物(陆宴辉等, 2018)防控棉铃虫, 新疆棉区除了利用大面积种植转基因 Bt 棉外, 同时也会喷洒甲维盐、三氟氯氰菊酯和氯虫苯甲酰胺等化学杀虫剂(王冬梅等, 2020)。除以上杀虫剂外, 阿维菌素和多杀霉素等生物农药常与化学杀虫剂复配, 被用于防治棉铃虫等害虫(顾金祥等, 2015; 庄占兴等, 2019)。这些传统农药因其速效、易操作且经济效益高等特点, 在病虫害防治中占据主导地位, 为农业增产丰收提供了有力保障(吴超等, 2019)。

在以棉铃虫为主的农业害虫防治中, 普遍存在农药施用过量、精准性差、利用率低、综合技术集成度弱等突出问题, 长期施用害虫会产生抗药性(张帅等, 2016; Liu et al., 2017; 赵玉玉等, 2018)。同时, 作物表面或进入植株内的杀虫剂随着时间推移逐步被降解与稀释, 易于形成低剂量甚至亚致死剂量杀虫剂环境, 这可能会对靶标害虫或非靶标昆虫造成潜在的影响(Boina et al., 2009)。短期内, 杀虫剂亚致死剂量并不会将大部分害虫杀死, 但能够引起一系列重要解毒酶活性的迅速上升, 而且随着亚致死浓度的升高其活性也进一步增加, 部分相关解毒酶基因也显著上调(徐鹿等, 2017; 杨亚军等, 2018; 张凯伦等, 2020), 如 Young et al. (2003) 研究发现, 烟蚜夜蛾 *Heliothis virescens* 早期经亚致死剂量筛选 6 代后并不会产生显著抗性, 但随着时间的推移及亚致死剂量代数的增加, 其潜在抗性也迅速增加, 连续处理 14 代后, 其抗性为对照 1 068 倍。

除中肠组织外, 脂肪体也是物质存储和中间代谢的组织, 是存在解毒酶的重要场所之一, 在昆虫对农药的代谢过程中发挥着重要作用, 如脂肪体中存在大量微粒体, 其对不同杀虫剂底物有很强的代谢活性(邱星辉等, 2002); Feyereisen & Durst (1978) 研究发现非洲飞蝗 *Locusta migratoria migratorioides*

脂肪体微粒体中存在参与蜕皮激素生物合成的细胞色素 P450 酶系, 而小菜蛾 *Plutella xylostella* 对 Cry1Ac 抗性的产生与其幼虫期蜕皮激素和保幼激素滴度的增加显著相关(Guo et al., 2020)。脂肪体内部脂质不断生成及裂解, 而脂质的稳态对于维持虫体正常生长发育尤为重要, 而参与其稳态的一些重要基因受体内激素调控, 如脂肪酸合成通路(fatty acid synthase, *FAS*)关键基因同时受保幼激素及其下游受体的负调控(Tan et al., 2017); 此外, 脂肪体内与激素敏感性脂肪酶相关的脂滴裂解(hormone-sensitive lipase, *HSL*)基因和脂肪体生成相关基因固醇调节元件结合蛋白(sterol-regulatory element binding proteins, *SREBP*)基因等均是参与激素调节的脂质稳态的重要基因(Eberlé et al., 2004; Bi et al., 2012), 而脂肪体内这些相关基因如何参与杀虫剂代谢的, 尚不清楚。

多杀霉素也称多杀菌素, 是一类常用生物杀虫剂, 具有明显的触杀和胃毒作用(Elliott et al., 2007), 主要登记用于防治仓储、棉花和蔬菜等害虫, 但田间蔬菜和棉田棉铃虫等重要害虫对其也敏感。而关于多杀霉素亚致死浓度引起的害虫生理及脂肪代谢的报道较少。为探究多杀霉素亚致死浓度对鳞翅目幼虫生理及代谢的影响, 本研究拟利用含多杀霉素亚致死浓度的人工饲料持续饲喂棉铃虫 3 龄幼虫, 测定饲喂后其体重、取食量、累计蛹化率、蛹发育历期和蛹重等生长发育、脂肪体内 TG 含量和相关基因 *SREBP*、*FAS* 和 *HSL* 的表达情况, 以期为进一步明确杀虫剂亚致死浓度下有害生物对生态环境的适应机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试昆虫: 自河南省济源白云实业有限公司购买棉铃虫卵, 于温度 (27±1)℃、相对湿度 60% 和光周期 16 L:8 D 的室内用人工饲料(梁革梅等, 1999)饲养 3 代以上, 取 2 龄末幼虫(头壳开裂)供试。

药剂、试剂和仪器: 93% 多杀霉素 (spinosad) 原

药,陶氏化学公司。甘油三酯(triglyceride, TG)检测试剂盒,南京建成生物工程研究所;Trizol 总 RNA 抽提试剂,美国 Invertrigen 公司;Prime Script™ 1st Strand cDNA Synthesis Kit 反转录试剂盒、*Taq* DNA 聚合酶和 SYBR Primer Script RT-PCR Kit 荧光定量试剂盒,日本 TaKaRa 公司;Ringer's Solution 昆虫解剖液,上海康朗生物科技有限公司,曲拉通 X-100,生工生物工程(上海)股份有限公司;其他试剂均为国产或进口分析纯。Mastercycle Pro S PCR 仪,德国 Eppendorf 公司;7500 Fast Real-time PCR System,美国 ABI 公司;ND-2000 分光光度计,美国 Thermo Scientific 公司;ZOOM 2000 显微镜,德国莱卡公司;万分之一天平,德国赛多利斯。

1.2 方法

1.2.1 多杀霉素亚致死浓度确定

分别取多杀霉素原药用二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)稀释配成 1×10^{-2} 母液,取 1 mL 母液加入含 0.05% 曲拉通 X-100 双蒸水溶液 2 906 μ L,稀释至 2.56 mg/mL,再依次按照浓度梯度 0.64、0.32、0.16 和 0.04 mg/mL 稀释。取 1 mL DMSO 作为对照药剂,加入含 0.05% 曲拉通 X-100 双蒸水溶液 2 906 μ L 中,稀释至 2.56 mg/mL。取配制好的棉铃虫人工饲料,在饲料冷却凝固前,将多杀霉素各浓度梯度药剂 0.1 mL 分别加入到一定体积饲料中,最终质量均为 100 g,制成含不同浓度多杀霉素的饲料,其终浓度分别为 0、0.04、0.16、0.32、0.64 和 2.56 mg/kg,以含 DMSO 的人工饲料为对照,终浓度为 2.56 mg/kg。将棉铃虫 2 龄末幼虫饥饿 4 h 后即得到 1 日龄 3 龄幼虫,挑选生长一致且健康的 1 日龄 3 龄幼虫放入 25 mL 带盖塑料杯内单头饲养,取含不同浓度多杀霉素的长 5 mm、宽 5 mm、高 5 mm 的饲料切块分别放入带盖塑料杯中,每个杯中放 1 块,每个浓度处理 24 头,即 1 个重复,每个处理重复 3 次,每天更换饲料,处理 7 d 后观察幼虫的死亡情况,计算死亡率。用毛笔轻轻拨动虫体,不动或者身体发软视为死亡。建立棉铃虫 3 龄幼虫的毒力回归方程,经毒力回归方程计算亚致死浓度 LC_{25} 。

1.2.2 多杀霉素亚致死浓度对棉铃虫生长发育影响

按照 1.2.1 方法配制含多杀霉素 LC_{25} 浓度的人工饲料,以含等量 DMSO 溶剂的人工饲料为对照。挑选生长一致且健康的棉铃虫 1 日龄 3 龄幼虫,进行饲喂试验,方法同 1.2.1,每天及时更换新鲜饲料,并且使用天平每天测量试虫体重、饲料取食量和蛹重,观察和记录各龄期蜕皮及羽化情况,计算各幼虫发

育历期和累计化蛹率指标。每个处理重复 3 次,每个重复处理 24 头幼虫。累计化蛹率=(当天化蛹头数+此前已化蛹头数)/供试幼虫总头数 $\times 100\%$;幼虫每天取食量=新鲜饲料初始质量-更换新鲜食物前剩余饲料质量。

1.2.3 多杀霉素亚致死浓度对棉铃虫 TG 的影响

饲喂试验同 1.2.2,分别于取食 24、48 和 72 h 后,每个处理取 3 头幼虫,将棉铃虫 3 龄幼虫固定于石蜡台,加入适量 Ringer's solution 昆虫解剖液覆盖虫体,在显微镜下用解剖镊小心取出棉铃虫脂肪组织,在解剖液中清洗干净后放入离心管中,参照 TG 检测试剂盒说明书提取和检测,每个处理重复 3 次。

1.2.4 多杀霉素对棉铃虫脂肪体相关基因表达的影响

饲喂试验同 1.2.2,分别于取食 24、48 和 72 h 后,每个处理取 6 头试虫,分别检测其脂肪体内相关基因 *SREBP*、*FAS* 和 *HSL* 的相对表达量,每个处理重复 3 次。设计引物 *SREBP*-F (5'-CCCCATACACCCACATCAAC-3')/*SREBP*-R (5'-AACAAGCAGCCAGACCTAAT-3')、*FAS*-F (5'-GACTTCCAGGCTGTCTGCTAAA-3')/*FAS*-R (5'-TAGTTGCTCTGTCCGGGGTTG-3')、*HSL*-F (5'-CCACCACCTACATACGCTGTTAT-3')/*HSL*-R (5'-GCCTCGCATTGACGGTAA GAAT-3') 和 18S-F (5'-GCATCTTTCAAATGTCTGC-3')/18S-R (5'-TACTCATTCCGATTACGAG-3'),所有引物均由北京擎科生物科技有限公司合成。按照 1.2.3 收集脂肪体样品,置于 Trizol 中,参照 Trizol 总 RNA 抽提试剂说明书提取总 RNA。用分光光度计检测 RNA 质量,保证吸光度 $OD_{260\text{ nm}}/OD_{280\text{ nm}}$ 在 1.8~2.0 左右。将获得的各处理的总 RNA 按照 Prime Script™ 1st Strand cDNA Synthesis Kit 反转录试剂盒说明书合成 cDNA。10 μ L 合成体系: gDNA Eraser Buffer 2 μ L、gDNA Eraser 1 μ L、每个处理样品的总 RNA 1 μ g、RNase free dH_2O 6 μ L。将合成体系于 42℃ 反应 2 min 后置于冰上,加入 5 $\times$ Prime-Script® Buffer 2 μ L、PrimeScript® RT Enzyme Mix I 1 μ L、RT Primer Mix 1 μ L 和 RNase free H_2O 4 μ L,混合均匀后 37℃ 孵育 15 min,85℃ 再孵育 5 s,于 -80℃ 保存。

以各样品 cDNA 为模版、以设计的 *SREBP*-F/*SREBP*-R、*FAS*-F/*FAS*-R、*HSL*-F/*HSL*-R 为引物以及 18S 内参基因的引物 18S-F/18S-R 进行实时荧光定量 PCR 检测。10 μ L 实时荧光定量 PCR 反应体系: 2 $\times$ SYBR Premix Ex *Taq*™ 5 μ L、10 μ mol/L 正反向引物各 0.5 μ L、cDNA 模板 1 μ L、无 RNA 酶的双蒸水

4 μL 。实时荧光定量PCR扩增条件: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性3 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性15 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 退火30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸30 s, 40个循环。以18S rRNA为内参基因, 利用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法分析脂肪体相关基因SREBP、FAS和HSL的相对表达量(Livak & Schmittgen, 2001)。

1.3 数据分析

采用DPS 7.05软件对试验数据进行统计分析, 对照与处理的体重、取食量、累计化蛹率、TG含量及基因相对表达量之间均采用 t 检验法进行差异显著性检验, 处理与对照的TG含量、蛹发育历期及蛹重均应用Duncan氏新复极差法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 多杀霉素对棉铃虫亚致死浓度的确定

根据多杀霉素不同浓度梯度下棉铃虫3龄幼虫的死亡率, 建立其毒力回归方程为 $y=4.144x+7.131$ ($R^2=0.946$), 由毒力回归方法计算 LC_{25} 为0.21 mg/kg, 95%置信区间为0.168~0.245 mg/kg。

2.2 多杀霉素亚致死浓度对棉铃虫生长发育的影响

2.2.1 对棉铃虫体重和取食量的影响

多杀霉素亚致死浓度处理2 d和3 d后, 棉铃虫幼虫体重与对照差异不显著, 随着处理时间的增加, 处理4~6 d后, 棉铃虫幼虫体重分别为0.065、0.263和0.329 g, 均显著低于对照($P<0.001$ 或 $P<0.01$, 图1-A)。多杀霉素亚致死浓度处理2~5 d后, 棉铃虫幼虫的取食量均与对照无显著差异, 而处理6 d后, 棉铃虫幼虫的取食量为0.082 g, 开始较对照显著降低($P<0.01$, 图1-B)。

2.2.2 对棉铃虫幼虫累计化蛹率的影响

多杀霉素亚致死浓度处理1 d和2 d后, 棉铃虫幼虫的累计化蛹率均与对照无显著变化, 处理3 d后, 棉铃虫幼虫的累计化蛹率为50.00%, 显著低于对照处理的累计化蛹率($P<0.05$), 处理4~7 d后, 棉铃虫幼虫的累计化蛹率分别为60.90%、63.20%、65.50%和65.50%, 分别显著低于对照的75.40%、76.10%、78.50%和80.10% ($P<0.001$ 和 $P<0.05$, 图2)。

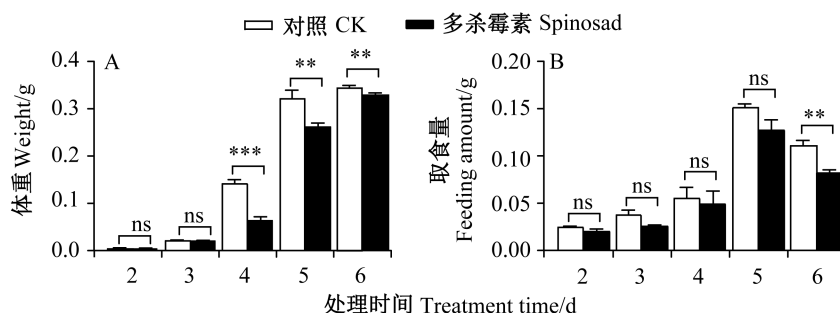


图1 多杀霉素亚致死浓度对棉铃虫幼虫体重(A)和取食量(B)的影响

Fig. 1 Effects of sublethal concentration of spinosad on the wet weight (A) and food consumption (B) of *Helicoverpa armigera* larvae

数据为平均数 $\pm$ 标准误。**和***分别表示同一时间对照与处理之间经 t 检验法检验在 $P<0.01$ 和 $P<0.001$ 水平差异显著。ns表示差异不显著。Data are mean $\pm$ SE. ** and *** indicate significant difference between CK and treatment at the same time at $P<0.01$ and $P<0.001$ levels by t test, respectively. ns indicates no significant difference.

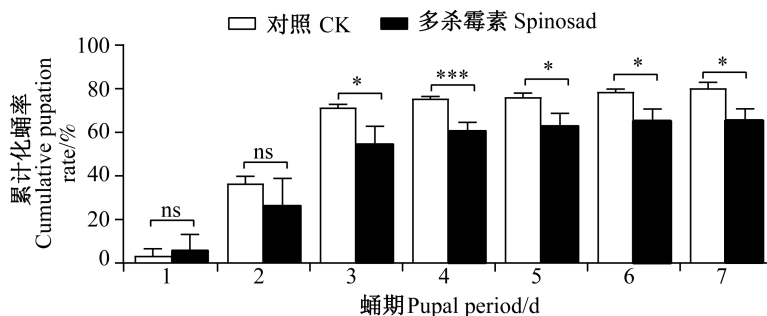


图2 多杀霉素亚致死浓度对棉铃虫幼虫累计化蛹率的影响

Fig. 2 Effects of sublethal concentration of spinosad on the cumulative pupation rate of *Helicoverpa armigera* larvae

图中数据为平均数 $\pm$ 标准误。*和***分别表示同一时间对照与处理之间经 t 检验法检验在 $P<0.05$ 和 $P<0.001$ 水平差异显著。ns表示差异不显著。Data in the figure are mean $\pm$ SE. * or *** indicate significant difference between CK and treatment at the same time at $P<0.05$ and $P<0.001$ levels by t test, respectively. ns indicates no significant difference.

2.2.3 对棉铃虫蛹发育历期和蛹重的影响

多杀霉素亚致死浓度后,棉铃虫蛹发育历期和单头蛹重分别为 10.74 d 和 0.274 g,前者显著大于对

照处理的 9.89 d($P<0.05$),后者极显著小于对照处理的 0.324 g($P<0.01$,表 1)。

表 1 多杀霉素亚致死浓度对棉铃虫蛹发育历期和蛹重的影响

Table 1 Effects of sublethal concentration of spinosad on the developmental duration of pupae and pupal weight of *Helicoverpa armigera*

处理 Treatment	蛹发育历期 Developmental period of pupa/d	蛹重 Pupal weight/g
对照 CK	9.89±1.31 b	0.324±0.056 A
多杀酶素 Spinosad	10.74±1.32 a	0.274±0.042 B

表中数据为平均数±标准误。同列不同大小写字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P<0.01$ 和 $P<0.05$ 水平差异显著。Data in the table are mean±SE. Different uppercase or lowercase letters in the same column indicate significant difference at $P<0.01$ and $P<0.05$ levels by Duncan's new multiple range test.

2.3 多杀霉素亚致死浓度对棉铃虫TG含量的影响

多杀霉素亚致死浓度处理 24、48 和 72 h 后,棉铃虫 3 龄幼虫脂肪体内 TG 含量先上升后下降,分别

为 0.620、1.114 和 0.739 mmol/L,均显著低于对照 ($P<0.01$, $P<0.05$ 或 $P<0.001$),而处理 72 h 后与处理 24 h 后脂肪体内 TG 含量差异不显著(图 3)。

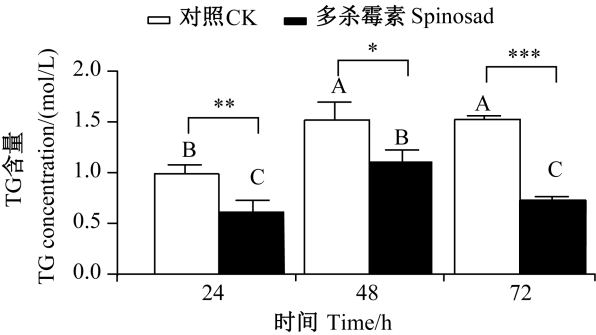


图 3 多杀霉素亚致死浓度对棉铃虫幼虫脂肪体内 TG 含量的影响

Fig. 3 Effects of sublethal concentration of spinosad on TG in the fat body of *Helicoverpa armigera* larvae

图中数据为平均数±标准误。不同大写字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P<0.01$ 水平差异显著。*、**和***分别表示同一时间对照与处理经 t 检验法检验在 $P<0.05$ 、 $P<0.01$ 和 $P<0.001$ 水平差异显著。Data in the table are mean±SE. Different uppercase letters indicate significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test. *, ** and *** indicate significant difference between different treatments at the same time at $P<0.05$, $P<0.01$ and $P<0.001$ levels by t test, respectively.

2.4 多杀霉素对棉铃虫脂肪体相关基因的影响

多杀霉素亚致死浓度处理 24 h 后,棉铃虫 3 龄幼虫脂肪体相关基因 *SERBP*、*FAS* 和 *HSL* 相对表达量分别为 0.90、1.05 和 3.32,前两者与对照差异不显著,而后者较对照显著上调 ($P<0.001$);处理 48 h 后,*SREBP* 相对表达量仍与对照差异不显著,*FAS* 相对表达量较对照显著下降 ($P<0.001$),而 *HSL* 较对照显著上升 ($P<0.05$);处理 72 h 后,*SREBP* 相对表达量较对照开始显著下调 ($P<0.001$),*FAS* 相对表达量持续显著下降 ($P<0.001$),而 *HSL* 相对表达量则持续显著上调 ($P<0.001$,图 4)。

3 讨论

本研究结果显示多杀霉素亚致死浓度处理后,

棉铃虫 3 龄幼虫蛹重比对照显著降低,这与其取食量显著下降一致,推测棉铃虫 3 龄幼虫期取食量相对减少,进而影响其蛹重及累计化蛹率乃至蛹的发育历期。其他昆虫也有类似现象,如氯虫苯甲酰胺、氟苯虫酰胺亚致死浓度处理后,烟蚜夜蛾 *Chloridea virescens* 幼虫和预蛹历期显著延长,幼虫体重显著降低;其中氟苯虫酰胺显著增加蛹发育历期,而氯虫苯甲酰胺显著延长雄成虫存活时间 (Barros et al., 2020);多杀霉素亚致死浓度通过损伤幼虫运动能力增强种内虫体间的相互攻击力,最终增加幼虫的死亡率 (Joncour & Nelson, 2021)。幼虫取食亚致死浓度杀虫剂后,在短时间内并不能造成种群大量死亡,但可能会显著影响其取食、生长发育甚至死亡率。

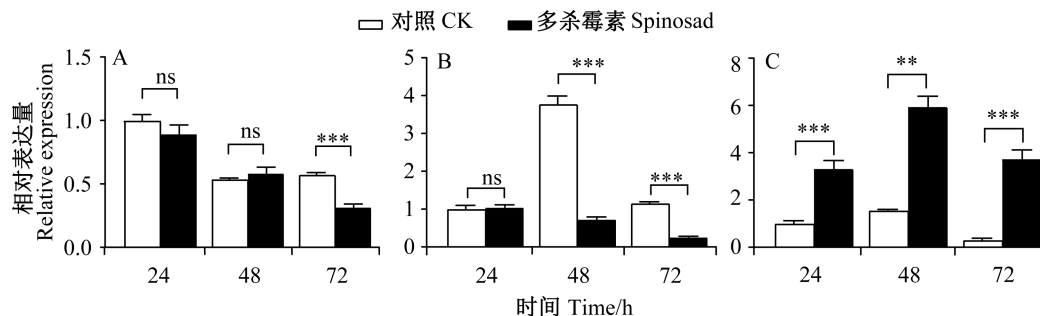


图4 多杀霉素亚致死浓度对棉铃虫幼虫脂肪体相关基因 *SERBP* (A)、*FAS* (B) 和 *HSL* (C) 表达量的影响

Fig. 4 Effects of sublethal concentration of spinosad on the expressions of *SERBP* (A), *FAS* (B) and *HSL* (C) genes in the fat body of *Helicoverpa armigera* larvae

图中数据为平均数±标准误。**和***分别表示同一时间对照与处理之间经 *t* 检验法检验在 $P < 0.01$ 和 $P < 0.001$ 水平差异显著。ns 表示差异不显著。Data in the figure are mean±SD. ** and *** indicate significant difference between CK and treatment at the same time at $P < 0.05$ and $P < 0.001$ levels by *t* test, respectively. ns indicates no significant difference.

本研究结果发现多杀霉素亚致死浓度处理 24~72 h 后,棉铃虫 3 龄幼虫脂肪体内 TG 含量均显著低于对照,且其脂肪体内参与脂肪合成信号通路的重要基因 *SREBP* 和 *FAS* 表达水平呈不同程度下调,而脂肪裂解相关基因 *HSL* 显著上调,后者与脂肪体中 TG 含量变化高度一致。脂肪体内脂质稳态受体内激素滴度影响很大,多杀霉素亚致死浓度可以引起棉铃虫幼虫期保幼激素的显著上调,同时可增加蛹期畸形率(Yao et al., 2021),推测保幼激素和蜕皮激素具有协同调控各变态期脂肪重组的生理功能。脂肪酸合成通路关键基因 *FAS* 受保幼激素及其下游受体的负调控作用(Tan et al., 2017),而多杀霉素亚致死浓度处理棉铃虫后,其血淋巴内保幼激素显著上升,可能引起了脂肪酸合成通路中相关的关键基因 *FAS* 表达量显著下调,而脂肪体内 *HSL* 与 *SREBP* 等基因均是参与激素调节脂质稳态的重要基因(Eberlé et al., 2004; Bi et al., 2012),在 *FAS* 和 *SREBP* 基因相对表达量下调、*HSL* 基因加速裂解脂滴的同时,造成了脂肪体内 TG 水平的显著降低。Meng et al. (2019) 研究结果也表明氯虫苯甲酰胺亚致死浓度处理后,二化螟 *Chilo suppressalis* 转录组基因发生变化,其中有 441 个基因上调,有 467 个基因下调,除一些常见的解毒酶基因细胞色素氧化酶、谷胱甘肽-S-转移酶、羧酸酯酶和磷酸二酯酶显著上调外,众多参与脂代谢的相关基因均发生显著变化。

饥饿、高温、寄生和杀虫剂亚致死浓度等逆境常常会引起昆虫幼虫取食量显著下降,生长发育延长。取食量的减少进一步可引起脂肪合成速率下降,同时脂肪动用概率增加,短时间内会造成 TG 含量逐渐下降(Fujikawa et al., 2009; 徐君等, 2009;

Wang et al., 2021),这些生理或代谢变化本身就是虫体典型的应激反应。如家蚕 2 日龄 5 龄幼虫连续饥饿 60 h 可引起其脂肪体内糖原和 TG 含量持续降低,其脂质分解代谢基因 *FAS* 和脂肪微滴储存蛋白基因 *Lsd1* 等显著下调,而胰岛素通路中叉形头转录因子 *FOXO*、胰岛素受体 *InR* 和蛋白激酶 B 即 *Akt* 等基因转录水平均显著上升(孟竹等, 2018); 37℃ 高温也可诱导褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 或白背飞虱 *Sogatella furcifera* 脂酰辅酶 A 去饱和酶 *FACR* 基因显著下调(Huang et al., 2017); 而小菜蛾被菜蛾盘绒茧蜂 *Cotesia vestalis* 寄生后,神经肽速激肽基因下调,进而造成体内脂肪含量的下降(Wang et al., 2021)。目前关于杀虫剂亚致死浓度下昆虫体内解毒酶基因变化以及抗性基因突变等的研究较多,而有关参与脂质稳态及生理代谢基因的鲜有深入挖掘(徐鹿等, 2017; Zuo et al., 2021)。下一步深入研究杀虫剂亚致死浓度对昆虫的影响,不仅要继续关注杀虫剂引起的解毒酶等重要基因变化,也要从生态多样性角度出发更加关注昆虫在适应环境过程中一些内在的生理或非解毒代谢的变化;结合昆虫固有的内分泌及代谢机制,进一步探索和认识害虫抗性机制的产生(Guo et al., 2021)。

参 考 文 献 (References)

- Barros LS, Yamamoto PT, Merten P, Naranjo SE. 2020. Sublethal effects of diamide insecticides on development and flight performance of *Chloridea virescens* (Lepidoptera: Noctuidae): implications for Bt soybean refuge area management. *Insects*, 11(5): 269
- Bi J, Xiang Y, Chen H, Liu Z, Grönke S, Kühnlein RP, Huang X. 2012. Opposite and redundant roles of the two *Drosophila* perilipins in lipid mobilization. *Journal of Cell Science*, 125(Pt15): 3568–

3577

- Boina DR, Onagbola EO, Salyani M, Stelinski LL. 2009. Antifeedant and sublethal effects of imidacloprid on Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*. Pest Management Science, 65(8): 870–877
- Eberlé D, Hegarty B, Bossard P, Ferré P, Fougère F. 2004. SREBP transcription factors: master regulators of lipid homeostasis. Biochimie, 86(11): 839–848
- Elliott RH, Benjamin MC, Gillott C. 2007. Laboratory studies of the toxicity of spinosad and deltamethrin to *Phyllotreta cruciferae* (Coleoptera: Chrysomelidae). The Canadian Entomologist, 139(4): 534–544
- Feyereisen R, Durst F. 1978. Ecdysterone biosynthesis: a microsomal cytochrome-P-450-linked ecdysone 20-monooxygenase from tissues of the African migratory locust. European Journal of Biochemistry, 88(1): 37–47
- Fujikawa K, Takahashi A, Nishimura A, Itoh M, Takano-Shimizu T, Ozaki M. 2009. Characteristics of genes up-regulated and down-regulated after 24 h starvation in the head of *Drosophila*. Gene, 446(1): 11–17
- Gu JX, Hang H, Xu CF, Zhang NH, Wang P, Zhao YW. 2015. Effect test of an oil in water emulsion (EW) containing 5% abamectin-cyhalothrin against the fourth generation of cotton bollworm. China Cotton, 42(4): 27–28 (in Chinese) [顾金祥, 杭浩, 徐翠芳, 张乃华, 王苹, 赵玉伟. 2015. 5%阿维菌素·高效氟氰菊酯水乳剂防治棉田4代棉铃虫效果. 中国棉花, 42(4): 27–28]
- Guo ZJ, Kang S, Sun D, Gong LJ, Zhou JL, Qin JY, Guo L, Zhu LH, Bai Y, Ye F, et al. 2020. MAPK-dependent hormonal signaling plasticity contributes to overcoming *Bacillus thuringiensis* toxin action in an insect host. Nature Communications, 11: 3003
- Huang HJ, Xue J, Zhuo JC, Cheng RL, Xu HJ, Zhang CX. 2017. Comparative analysis of the transcriptional responses to low and high temperatures in three rice planthopper species. Molecular Ecology, 26(10): 2726–2737
- Joncour B, Nelson WA. 2021. Sublethal concentration of insecticide amplifies interference competition in a *Tortrix* moth. Ecotoxicology and Environmental Safety, 220: 112324
- Li YQ, An FQ, Su LD, Feng JT, Zhang X. 2012. Effects of two points mutations of esterases from *Helicoverpa armigera* on metabolic activities of three kinds of insecticides. Journal of Plant Protection, 39(3): 271–276 (in Chinese) [李永强, 安凤秋, 苏立德, 冯俊涛, 张兴. 2012. 棉铃虫酯酶两个位点突变对三种杀虫剂代谢活性的影响. 植物保护学报, 39(3): 271–276]
- Liang GM, Tan WJ, Guo YY. 1999. The technical improvement on artificial feeding of *Helicoverpa armigera*. Plant Protection, 25(2): 15–17 (in Chinese) [梁革梅, 谭维嘉, 郭予元. 1999. 人工饲养棉铃虫技术的改进. 植物保护, 25(2): 15–17]
- Liu LP, Gao MJ, Yang S, Liu SY, Wu YD, Carrière Y, Yang YH. 2017. Resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin Cry2Ab and survival on single-toxin and pyramided cotton in cotton bollworm from China. Evolutionary Applications, 10(2): 170–179
- Livak KJ, Schmittgen TD. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. Methods, 25(4): 402–408
- Lu YH, Jiang YY, Liu J, Zeng J, Yang XM, Wu KM. 2018. Adjustment of cropping structure increases the risk of cotton bollworm outbreaks in China. Chinese Journal of Applied Entomology, 55(1): 19–24 (in Chinese) [陆宴辉, 姜玉英, 刘杰, 曾娟, 杨现明, 吴孔明. 2018. 种植业结构调整增加棉铃虫的灾变风险. 应用昆虫学报, 55(1): 19–24]
- Meng XK, Dong F, Qian K, Miao LJ, Yang XM, Ge HC, Wu ZL, Wang JJ. 2019. Transcriptome analysis reveals global gene expression changes of *Chilo suppressalis* in response to sublethal dose of chlorantraniliprole. Chemosphere, 234: 648–657
- Meng Z, Wen MY, Kang XL, Lu ZY, Zhao P, Xia QY. 2018. Effects of starvation stress on the glucose and lipid metabolism and the role of BmFoxO in *Bombyx mori*. Acta Entomologica Sinica, 61(8): 895–904 (in Chinese) [孟竹, 文茂羽, 康晓丽, 卢忠燕, 赵萍, 夏庆友. 2018. 饥饿胁迫对家蚕糖脂代谢的影响及BmFoxO的作用. 昆虫学报, 61(8): 895–904]
- Pan HS, Jiang YY, Wang PL, Liu J, Lu YH. 2018. Research progress in the status evolution and integrated control of cotton pests in Xinjiang. Plant Protection, 44(5): 42–50 (in Chinese) [潘洪生, 姜玉英, 王佩玲, 刘建, 陆宴辉. 2018. 新疆棉花害虫发生演替与综合防治研究进展. 植物保护, 44(5): 42–50]
- Qiu XH, Li W, Leng XF. 2002. Comparison of microsomal P450 monooxygenases in midgut and fat body tissues of 6th instar larvae of cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*). Acta Zoologica Sinica, 48(2): 208–212 (in Chinese) [邱星辉, 李薇, 冷欣夫. 2002. 棉铃虫6龄幼虫中肠与脂肪体微粒体P450酶系的比较. 动物学报, 48(2): 208–212]
- Tan QQ, Liu W, Zhu F, Lei CL, Wang XP. 2017. Fatty acid synthase 2 contributes to diapause preparation in a beetle by regulating lipid accumulation and stress tolerance genes expression. Scientific Reports, 7: 40509
- Wang DM, Li HQ, Ding RF, Akedan U, Liu J, Xu Y. 2020. Resistance of cotton bollworm *Helicoverpa armigera* (Hübner) to three insecticides in Xinjiang. Journal of Plant Protection, 47(1): 211–212 (in Chinese) [王冬梅, 李海强, 丁瑞丰, 阿克旦·吾外士, 刘建, 徐遥. 2020. 新疆棉铃虫种群对三种化学药剂的抗性. 植物保护学报, 47(1): 211–212]
- Wang YP, Wu XT, Wang ZH, Chen T, Zhou SC, Chen JN, Pang L, Ye XQ, Shi M, Huang JH, et al. 2021. Symbiotic bracovirus of a parasite manipulates host lipid metabolism via tachykinin signaling. PLoS Pathogens, 17(3): e1009365
- Wu C, Zhang L, Liao CY, Wu KM, Xiao YT. 2019. Research progress of resistance mechanism and management techniques of fall armyworm *Spodoptera frugiperda* to insecticides and Bt crops. Journal of Plant Protection, 46(3): 503–513 (in Chinese) [吴超, 张磊, 廖重宇, 吴孔明, 萧玉涛. 2019. 草地贪夜蛾对化学农药和Bt作物的抗性机制及其治理技术研究进展. 植物保护学报, 46(3): 503–513]
- Xu J, Zhou JC, Ding J, Zhao SM. 2009. Effect of heat treatment on the larva of red flour beetle, *Tribolium castaneum*. Liangyou Cangchu Keji Tongxun, 25(5): 37–39 (in Chinese) [徐君, 周继成, 丁

- 静, 赵思明. 2009. 热处理对赤拟谷盗幼虫的影响. 粮油仓储科技通讯, 25(5): 37–39]
- Xu L, Zhao CQ, Xu DJ, Xu GC, Xu XL, Gu ZY. 2017. Effects of sublethal sulfoxaflor on cytochrome P450 of the small brown planthopper, *Laodelphax striatellus*. Journal of Plant Protection, 44(4): 679–686 (in Chinese) [徐鹿, 赵春青, 徐德进, 徐广春, 许小龙, 顾中言. 2017. 亚致死剂量氟啶虫胺腈对灰飞虱细胞色素P450的影响. 植物保护学报, 44(4): 679–686]
- Yang YJ, Wang CY, Xu HX, Lu YH, Lü ZX. 2018. Effects of sublethal concentration of two insecticides on growth and development of rice leafhoppers, *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée) and activities of detoxification enzymes. Chinese Journal of Rice Science, 32(3): 304–310 (in Chinese) [杨亚军, 王彩云, 徐红星, 鲁艳辉, 吕仲贤. 2018. 两种药剂亚致死浓度对稻纵卷叶螟生长发育及解毒酶活性的影响. 中国水稻科学, 32(3): 304–310]
- Yao SY, Yang Y, Xue YY, Zhao WL, Liu XG, Du MF, Yin XM, Guan RB, Wei JZ, An SH. 2021. New insights on the effects of spinosad on the development of *Helicoverpa armigera*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 221: 112452
- Young HP, Bailey WD, Roe RM. 2003. Spinosad selection of a laboratory strain of the tobacco budworm, *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae), and characterization of resistance. Crop Protection, 22(2): 265–273
- Zhang KL, Li ZQ, Ding J, Du RS, Zhao XY, Xia XM. 2020. Sensitivity detection of cyantraniliprole to *Laodelphax striatellus* in Shandong and effect of sublethal cyantraniliprole on detoxification enzyme activities. Journal of Environmental Entomology, 42(1): 212–220 (in Chinese) [张凯伦, 李忠芹, 丁杰, 杜若诗, 赵晓雨, 夏晓明. 2020. 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. 环境昆虫学报, 42(1): 212–220]
- Zhang S, Ma Y, Min H, Yu XQ, Li N, Rui CH, Gao XW. 2016. Insecticide resistance monitoring and management demonstration of major insect pests in the main cotton-growing areas of northern China. Acta Entomologica Sinica, 59(11): 1238–1245 (in Chinese) [张帅, 马艳, 闵红, 于晓庆, 李娜, 芮昌辉, 高希武. 2016. 华北棉区主要害虫抗药性监测与治理技术示范. 昆虫学报, 59(11): 1238–1245]
- Zhao YY, Li BL, Li MM, Wu JX, Li YP. 2018. Preliminary research on the resistance mechanism of *Mythimna separata* to beta-cypermethrin. Chinese Journal of Applied Entomology, 55(5): 857–864 (in Chinese) [赵玉玉, 李伯辽, 李梅梅, 仵均祥, 李怡萍. 2018. 粘虫对高效氯氰菊酯抗性机制的初步研究. 应用昆虫学报, 55(5): 857–864]
- Zhuang ZX, Gao DL, Xu DK, Hu ZJ, Song HW, Zhuang ZG. 2019. Evaluation of toxicity and field control effect of different insecticides against thrips on asparagus. Agrochemicals, 58(5): 364–366 (in Chinese) [庄占兴, 高德良, 徐德坤, 胡尊纪, 宋化稳, 庄治国. 2019. 不同药剂对芦笋蓟马的毒力和田间应用效果评价. 农药, 58(5): 364–366]
- Zuo YY, Shi Y, Zhang F, Guan F, Zhang JP, Feyereisen R, Fabrick JA, Yang YH, Wu YD. 2021. Genome mapping coupled with CRISPR gene editing reveals a P450 gene confers avermectin resistance in the beet armyworm. PLoS Genetics, 17(7): e1009680

(责任编辑:张俊芳)