

不同品种黄瓜对 B 型烟粉虱羧酸酯酶活性的影响^{*}

田玉安 梁 沛^{**} 高希武

(中国农业大学昆虫学系 北京 100193)

摘 要 采用酶标仪动力学法,比较研究了 3 个黄瓜品种对 B 型烟粉虱 *Bemisia tabaci* (Gennadius) 羧酸酯酶比活力的影响。结果表明,不同品种黄瓜对 B 型烟粉虱羧酸酯酶活性具有明显的影响:取食四季秋瓜和 22-94 RZ 的 B 型烟粉虱羧酸酯酶活性均较高,其比活力最低值分别为对照的 1.07 倍和 1.27 倍;取食 Deltastar RZ 的为最低,其羧酸酯酶比活力最低值仅为对照的 0.56 倍。取食不同品种黄瓜不同时间,B 型烟粉虱羧酸酯酶比活力动态变化趋势不同:取食四季秋瓜、22-94 RZ 的 B 型烟粉虱,其羧酸酯酶比活力始终保持被激活状态;取食 Deltastar RZ 后则处于被抑制状态,但 72 h 后恢复至起始水平,说明 B 型烟粉虱在 Deltastar RZ 上具有较强的恢复能力,适应性较好。研究表明羧酸酯酶在 B 型烟粉虱选择适应寄主过程中应该起着重要作用。

关键词 B 型烟粉虱, 黄瓜品种, 羧酸酯酶比活力, 动态变化

Effects of different cucumber varieties on carboxylesterase activity in *Bemisia tabaci* B-biotype

TIAN Yu-An LIANG Pei^{**} GAO Xi-Wu

(Department of Entomology, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract The effect of different varieties of cucumber on the carboxylesterase (CarE) activity of the B-biotype of the tobacco whitefly, *Bemisia tabaci* (Gennadius) was studied in order to provide basic information for developing new varieties of insect-resistant cucumber and improve the integrated management of this pest. Using the kinetic method, differences in CarE activity of tobacco whiteflies fed on the leaves of three different cucumber varieties was analyzed at T = 23—27°C and RH = 80% ± 5% in a laboratory. The CarE activity of tobacco whiteflies varied significantly with cucumber variety. The lowest specific CarE activity was measured in whiteflies fed on Sijiqiugua or 22-94 RZ cucumbers which was 1.07 or 1.27 times higher, respectively, than the control, and 0.56 times lower than that of whiteflies fed on Deltastar RZ cucumbers. There was a significant difference in the dynamics of CarE activity between whiteflies fed on Sijiqiugua or 22-94 RZ and those fed on Deltastar RZ. CarE activity in whiteflies fed on both Sijiqiugua and 22-94 RZ cucumbers generally increased during the experiment, whereas that of whiteflies fed on Deltastar RZ cucumbers decreased after 3 to 24 hours, increased after 48 hours and finally returned to its original level after 72 hours. This demonstrates that whiteflies were able to control CarE activity when feeding on Deltastar RZ cucumbers. These results indicate that CarE may be important in host plant selection by the *B. tabaci* B-biotype.

Key words *Bemisia tabaci* B-biotype, cucumber variety, carboxylesterase activity, dynamics

B 型烟粉虱 *Bemisia tabaci* (Gennadius) B-biotype, 又称银叶粉虱 *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring (Bellows *et al.*, 1994), 隶属同翅目 Homoptera, 粉虱科 Aleyrodidae, 小粉虱属 *Bemisia*, 原产生于北非、中东地区 (Mound, 1963; Cock,

1986; De Barro *et al.*, 2000)。目前世界范围内共发现 24 个烟粉虱生物型, 其中 B 型烟粉虱具有寄主范围广、存活率强、产卵量大、传播病毒广泛的特点, 造成的危害最为严重 (Brown, 1995; Perring, 2001)。20 世纪 90 年代, 伴随着全球范

^{*} 资助项目: 国家重点基础研究发展规划项目 (973 计划) (2009CB119200)、公益性行业 (农业) 科研专项 (201203038)。

^{**} 通讯作者, E-mail: liangcau@cau.edu.cn

收稿日期: 2012-01-17, 接受日期: 2012-02-27

国内贸易往来的加强,B 型烟粉虱借助花卉及其他经济作物苗木成功侵入中国(Xu, 1996; 罗晨和张芝利, 2000), 并相继在许多地区暴发成灾, 在蔬菜、棉花及园林花卉上造成重大经济损失, 对我国农作物和园林花卉植物生产构成严重威胁。B 型烟粉虱易产生抗药性, 大量使用化学杀虫剂造成环境污染, 因此在害虫综合防治策略实施过程中, 有关抗虫品种的培育与研究日益受到人们的重视(张文辉和刘光杰, 2003)。在构成植物抗虫性的众多因素中, 次生物质作为植物抗虫性的主要化学基础, 已成为抗虫性研究的一项重要内容(Kostal, 1993; Thomas and Erich, 1998; 孔垂华, 1998)。植物次生物质可诱导激活或抑制害虫体内相关解毒酶系, 从而导致对药剂的敏感性发生明显改变(Brattsten, 1988), 并最终影响害虫的田间防治效果, 同时昆虫解毒酶系的诱导为昆虫适应环境提供了更多的可能性(Terriere, 1974)。羧酸酯酶是昆虫体内一类重要的解毒酶系, 也是杀虫药剂代谢中唯一不需要额外能量就能够催化酯类化合物水解的一类酶系(Matsumura, 1985)。大量的研究表明, 不同的寄主植物、同一寄主植物不同品种以及不同的植物次生物质都能够影响昆虫体内的羧酸酯酶活性(高希武, 1992; 李腾武等, 1997; 宋春满等, 2006)。同时, 昆虫解毒酶系的诱导可随所取食不同寄主植物或次生物质的持续时间而呈现动态变化(Brattsten and Wilkinson, 1977; Yu *et al.*, 1979)。已经明确, 羧酸酯酶解毒代谢作用增强是烟粉虱产生抗药性的重要机理之一(Wool and Greenberg, 1990; Snyder *et al.*, 1994)。但有关同种蔬菜不同品种对 B 型烟粉虱羧酸酯酶活性影响的研究报道甚少。为此, 本研究采用生物化学技术与方法, 测定了不同品种黄瓜对 B 型烟粉虱羧酸酯酶比活力及其动态趋势的影响, 以阐明 B 型烟粉虱对不同黄瓜品种产生选择性差异的生化机制进而指导黄瓜抗虫性品种选育。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试虫源 B 型烟粉虱虫源由北京市农林科学院植物保护环境保护研究所提供。以盆栽棉花(上方及四周皆罩以 120 网目的细纱)为饲养寄主, 环境条件为温度 23 ~ 27℃、湿度 80% ± 5%、

自然光照, 在不接触任何药剂的情况下于温室内容养 4 代以上。

1.1.2 供试黄瓜品种 为增加种质资源的差异性, 在以往实验的基础上, 选择 3 个来自不同地域并且在我国蔬菜生产中常用的黄瓜品种, 分别是四季秋瓜(中国)、22-94 RZ(荷兰)和 Deltastar RZ(荷兰)。不同品种的黄瓜分别播种于预先用恶霉灵消毒的花盆内, 加网罩避虫培养清洁健康苗, 统一施肥和管理, 生长至 4 ~ 5 片真叶期备用。供试黄瓜生长期间不施用任何药剂。实验前预先将待处理的黄瓜苗真叶用蒸馏水喷淋并自然晾干。

1.1.3 化学试剂和主要仪器 乙酸- α -萘酯(α -NA), 化学纯(上海试剂一厂产品); 固蓝 RR 盐(Fluka 公司产品); 其它试剂均为国产分析纯。Microplate reader(奥地利 TECAN 公司产品)。

1.2 试验方法

1.2.1 试虫处理 在每棵黄瓜苗的网罩内接入 B 型烟粉虱成虫 200 头左右(用指形管), 烟粉虱成虫立即飞到叶片上附着并取食, 以饲养寄主棉花上的 B 型烟粉虱成虫(未取食黄瓜叶片)为对照。待烟粉虱取食 3、6、12、24、48、72 h 共 6 个实验预设时间间隔后, 轻轻抖动黄瓜叶片, 驱使烟粉虱飞离至网罩上方附着, 然后将其置 -20℃ 冰箱冷冻 5 min 至晕, 取出试虫置 -80℃ 保存待测。

1.2.2 羧酸酯酶活性的测定 参考 Byrne 和 Devonshir (1993) 方法, 采用酶标仪测定法。不同品种黄瓜、不同取食时间单头测定 70 ~ 80 头。反应总体积 250 μ L, α -NA 的终浓度为 100 μ mol/L, 酶液为单头烟粉虱在 50 μ L pH7.0 磷酸缓冲液中的匀浆液, 以固蓝 RR 盐为显色剂, 采用动力学法, 用酶标仪检测反应混合物在 450 nm 下 5 min 内的 OD 值变化, 即为羧酸酯酶比活力, 比活力单位为 $\text{mOD} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{Fly}^{-1}$ 。

1.3 数据统计与分析

不同处理间羧酸酯酶活性比较采用 GraphPad InStat 3.0 软件进行 one-way ANOVA 分析。

2 结果与分析

2.1 不同品种黄瓜对 B 型烟粉虱羧酸酯酶比活力的影响

以饲养寄主棉花上 B 型烟粉虱羧酸酯酶比活

力为对照,计算不同品种黄瓜上、不同取食时间的 B 型烟粉虱羧酸酯酶相对活性(表 1)。结果显示,取食四季秋瓜、22-94 RZ 的 B 型烟粉虱羧酸酯酶比活力较高且无明显差异;取食 12 h 后,其羧酸酯酶比活力均达到最高,分别为对照的 152%、

154%;取食 Deltastar RZ 的 B 型烟粉虱羧酸酯酶比活力较低;取食 12 h 后,其羧酸酯酶比活力降到最低,仅为对照的 56%。研究表明,不同品种黄瓜对致害昆虫 B 型烟粉虱羧酸酯酶活性具有明显影响。

表 1 取食不同黄瓜叶片烟粉虱羧酸酯酶比活力值
Table 1 Activity of CarE in Bemisia tabaci fed on leaves of different cucumber varieties

处理时间 Time(h)	四季秋瓜(Sijiqiugua)		22-94 RZ		Deltastar RZ	
	比活力 mOD·min ⁻¹ ·Fly ⁻¹	相对倍数 RR	比活力 mOD·min ⁻¹ ·Fly ⁻¹	相对倍数 RR	比活力 mOD·min ⁻¹ ·Fly ⁻¹	相对倍数 RR
0	119.22 ± 5.12b	1.00	119.22 ± 5.12b	1.00	119.22 ± 5.12a	1.00
3	127.76 ± 6.36b	1.07	151.68 ± 5.70a	1.27	117.79 ± 6.18a	0.98
6	135.55 ± 16.37b	1.14	162.58 ± 5.45a	1.36	116.14 ± 5.13a	0.97
12	180.70 ± 8.80a	1.52	183.41 ± 16.81a	1.54	66.46 ± 18.49b	0.56
24	133.57 ± 16.63b	1.12	152.70 ± 15.41a	1.28	97.39 ± 7.02b	0.82
48	146.30 ± 6.58b	1.23	179.35 ± 6.05a	1.50	82.96 ± 14.83b	0.70
72	180.55 ± 8.16a	1.51	166.83 ± 15.76a	1.40	121.54 ± 3.94a	1.02

注:表中数字为平均值 ± 标准误;同列数据后标有不同字母表示差异显著(P < 0.05)。
Data are mean ± SE, and followed by different letters in the same column indicate significantly different at 0.05 level.

2.2 不同品种黄瓜对 B 型烟粉虱羧酸酯酶比活力动态趋势的影响

将羧酸酯酶比活力分成 0~40、40~80、……、280~320 和 >320 mOD·min⁻¹·Fly⁻¹ 9 段,分别计算取食不同时间后各品种上 B 型烟粉虱不同个体羧酸酯酶比活力在各段的分布。图 1 显示,取食 3 h 后,四季秋瓜、Deltastar RZ 上 B 型烟粉虱约有 80% 的个体羧酸酯酶比活力分布在 40~160 mOD·min⁻¹·Fly⁻¹ 之间,与对照(79.71%)差异不明显;取食 22-94 RZ 的 B 型烟粉虱约有 90% 的个体羧酸酯酶比活力分布在 80~240 mOD·min⁻¹·Fly⁻¹ 之间。取食 12 h 后,22-94 RZ 上羧酸酯酶比活力 >120 mOD·min⁻¹·Fly⁻¹ 的 B 型烟粉虱个体频率达 90% 左右,在四季秋瓜上约为 70%,Deltastar RZ 上仅为 10% 左右。取食 24 h 后,Deltastar RZ 上 B 型烟粉虱高活性个体频率逐渐增加,至 72 h 其羧酸酯酶比活力在 40~200 mOD·min⁻¹·Fly⁻¹ 之间的个体频率为 96%,与对照(97%)无明显差异;四季秋瓜、22-94 RZ 上高活性个体则持续增加,明显高于对照。

统计各处理中 B 型烟粉虱羧酸酯酶高比活力(>120 mOD·min⁻¹·Fly⁻¹)的个体频率分布,整理见图 2。从图 2 可以看出,随取食时间的延续,四

季秋瓜、22-94 RZ 2 品种上 B 型烟粉虱高比活力个体频率的动态变化趋势相仿,均呈逐步增加趋势,且始终高于对照;Deltastar RZ 上 B 型烟粉虱高比活力个体频率的响应方式则相反,其个体频率 12 h 前呈降低趋势,24 h 后逐渐增加,72 h 后恢复至起始水平。研究表明,不同品种黄瓜对 B 型烟粉虱羧酸酯酶比活力动态趋势的影响各异。与取食四季秋瓜、22-94 RZ 的 B 型烟粉虱羧酸酯酶持续保持高活性不同,取食 Deltastar RZ 的 B 型烟粉虱羧酸酯酶比活力平均值(表 1)以及高比活力的个体频率(图 2)于 72 h 后均恢复至起始水平,说明 B 型烟粉虱在 Deltastar RZ 上具有较好的恢复能力和适应性。

3 讨论

羧酸酯酶是昆虫体内对外源性物质的解毒酶系之一(高希武,1992)。昆虫体内酶系的变化是昆虫对化学药剂敏感性产生变化的重要原因之一,同时也是衡量植物抗虫性的重要指标之一(李云寿等,1996)。大量的研究报道,寄主植物以及同一寄主植物不同品种可以改变昆虫体内羧酸酯酶的活性;高希武(1992)研究报道不同棉花品种对棉蚜羧酸酯酶的影响具有明显的差异;李腾武

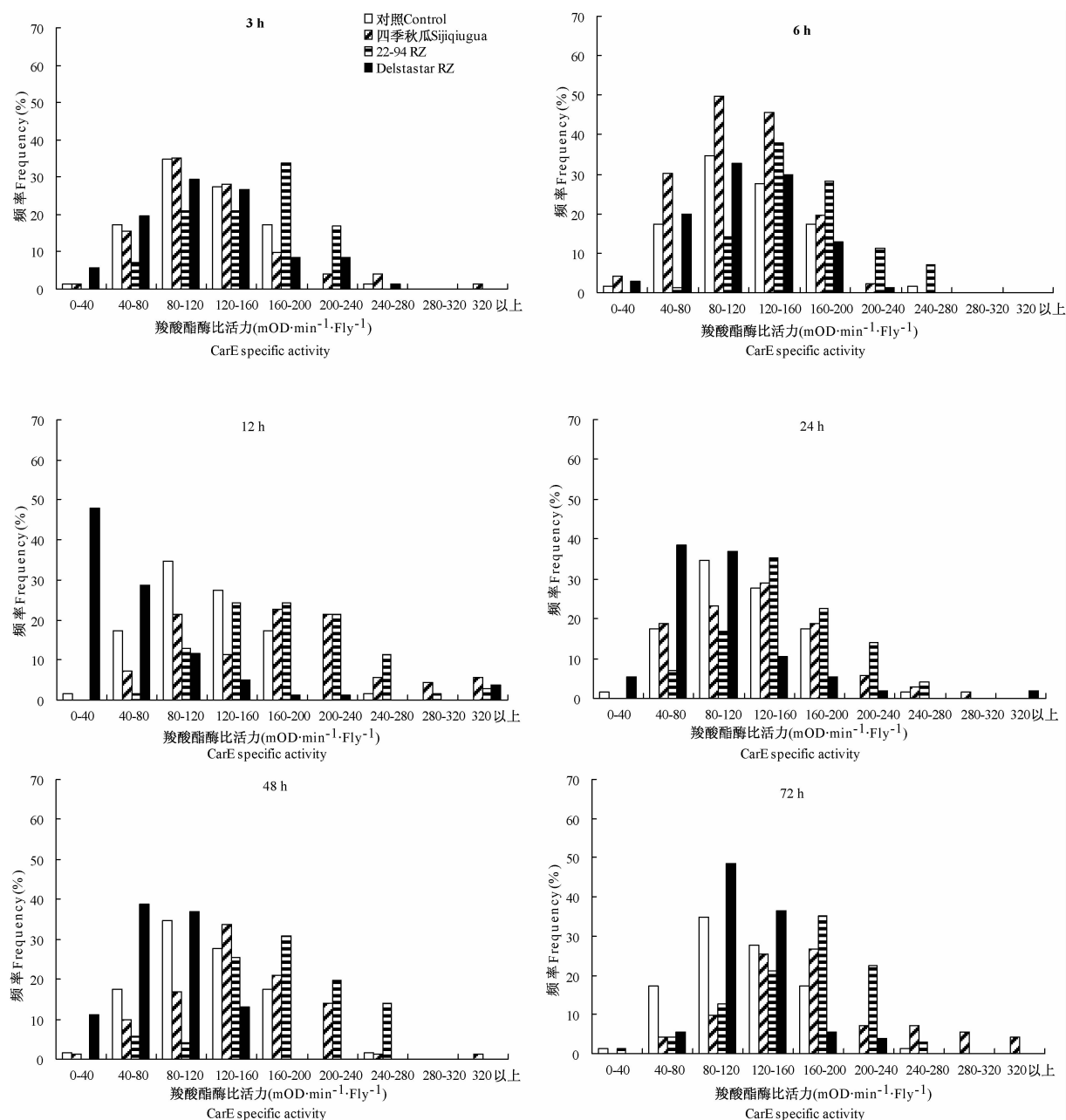


图 1 取食不同时间各品种上 B 型烟粉虱羧酸酯酶活性频率分布

Fig. 1 Frequency distribution of CarE activity in *Bemisia tabaci* fed on different varieties of cucumber at different stages

等(1997)报道了不同寄主植物对桃蚜羧酸酯酶的诱导作用;宋春满等(2006)报道了不同烤烟品种对烟蚜体内的羧酸酯酶活力的影响。许多植物次生物质能够诱导昆虫体内的解毒酶系,这些酶系除了降解植物次生代谢物质外,也与杀虫药剂的降解有关。植食性昆虫对植物次生代谢物质的反应能力对其决定寄主谱起着重要作用(高希武,1992)。

本研究显示,不同品种黄瓜对 B 型烟粉虱羧酸酯酶活性及其动态趋势具有明显影响,且品种间差异明显。在四季秋瓜、22-94 RZ 上,B 型烟粉虱羧酸酯酶比活力表现为激活型;在 Deltastar RZ 上则表现为抑制型,且 72 h 后恢复。相比四季秋瓜和 22-94 RZ,B 型烟粉虱能更好地适应取食 Deltastar RZ。

姬秀枝等(2005)研究报道,烟粉虱成虫对不

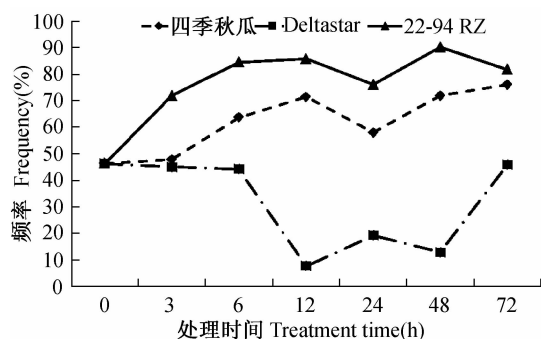


图2 取食不同品种黄瓜 B 型烟粉虱羧酸酯酶高比活力 (>120) 频率分布

Fig.2 Frequency distribution of CarE activity (>120 mOD·min⁻¹·Fly⁻¹) in *Bemisia tabaci* fed on leaves of different cucumber varieties

同黄瓜品种取食和产卵的选择存在一定差异:较喜好 Deltastar RZ 等,最不喜欢四季秋瓜、22-94 RZ、春光 2 号等。与本研究结果表现一致,因此可以认为羧酸酯酶在 B 型烟粉虱的寄主选择适应以及寄主抗虫性产生过程中可能起着重要作用。

寄主植物除了可以改变羧酸酯酶的量以外,也可以改变羧酸酯酶的性质(高希武,1992)。寄主植物对解毒酶系统这种量和质的诱导变异可能与植物体内次生性代谢物质的种类以及虫体的营养状态有关(Lindroth, 1989)。本研究从生物化学水平上,明确了 B 型烟粉虱羧酸酯酶活性受植物防御性次生物质影响的变化规律,至于酶的诱导机制是表达量发生改变还是诱导合成新的同工酶,则需要克隆烟粉虱主要解毒酶的基因,从转录水平明确植物次生物质诱导后羧酸酯酶在分子水平上的变化动态。同时,为了进一步摸清 B 型烟粉虱对寄主的选择适应机制,有必要对寄主植物体内植物次生物质的种类及其对烟粉虱的影响进行深入研究。

参考文献 (References)

- Bellows TS, Perring TM, Gill RJ, Headrick DH, 1994. Description of a species of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 87(2):195—206.
- Brattsten LB, Wilkinson CF, 1977. Herbivore-plant interactions: mixed-function oxidases and secondary plant substances. *Science*, 196:1349—1352.
- Brattsten LB, 1988. Potential role of plant allelochemicals in

- the development of insecticide resistance // Barbosa P, Letourneau DK (eds.). *Novel Aspects of Insect-Plant Interactions*. New York: Wiley. 313—348.
- Brown JK, 1995. The sweet potato or silverleaf whiteflies: biotypes of *Bemisia tabaci* or a species complex. *Annu. Rev. Entomol.*, 40:511—534.
- Byrne FJ, Devonshir AL, 1993. Insensitive acetylcholinesterase and esterase polymorphism in susceptible and resistant populations of the tobacco whitefly *Bemisia tabaci* (Genn.). *Pest. Biochem. Physiol.*, 45(1):34—42.
- Cock MJW, 1986. Other control methods // Cock MJW (ed.). *Bemisia tabaci: Bemisia tabaci-A Literature Survey on the Cotton Whitefly with an Annotated Bibliography*. Ascot, UK: AFO/CAB. 56—61.
- De Barro PJ, Driver F, Trueman JWH, Curran J, 2000. Phylogenetic relationships of world populations of *Bemisia tabaci* (Gennadius) using ribosomal ITS1. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 16(1):29—36.
- Kostal V, 1993. Physical and chemical factors influencing landing and oviposition by the cabbage root on host-plant models. *Entomol. Exp. Appl.*, 66:109—118.
- Lindroth RL, 1989. Chemical ecology of the luna moth: effects of host plant on detoxification enzyme activity. *J. Chem. Ecol.*, 15:2019—2029.
- Matsumura F, 1985. Metabolism of insecticides by animals and plants // Matsumura F 2nd (ed.). *Toxicity of Insecticides*. New York: Plenum Press. 203—298.
- Mound LA, 1963. Host-correlated variation in *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae). *Proc. Roy. Entomol. Soc. Lond. Ser. A, Gen. Entomol. (A)*, 38:171—180.
- Perring TM, 2001. The *Bemisia tabaci* species complex. *Crop Prot.*, 20:725—737.
- Snyder MJ, Walding JK, Feyereisen R, 1994. Metabolic fate of the allelochemical nicotine in the tobacco hornworm *Manduca sexta*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 24(8):837—846.
- Terriere LC, 1974. Enzyme induction of detoxifying enzymes in insects. *J. Agric. Food Chem.*, 22(3):366—373.
- Thomas D, Erich S, 1998. Oviposition of carrot fly (*Psila rosae*) in response to foliage and leaf surface extracts of host plants. *Chemoeology*, 8:39—49.
- Wool D, Greenberg S, 1990. Esterase activity in whiteflies (*Bemisia tabaci*) in Israel in relation to insecticide resistance. *Entomol. Exp. Appl.*, 57:251—258.
- Xu RM, 1996. The occurrence and distribution of *Bemisia* in

- China // Gerling D (ed.). *Bemisia* 1995. Taxonomy, Biology, Damage, Control and Management. Andover: Intercept Ltd. 125—131.
- Yu SJ, Berry RE, Terriere LC, 1979. Host plant stimulation of detoxifying enzymes in a phytophagous insect. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 12:280—284.
- 高希武, 1992. 寄主植物对棉蚜羧酸酯酶活性的影响. 昆虫学报, 35(3):267—272.
- 姬秀枝, 张青文, 刘小侠, 杨麦生, 2005. 烟粉虱对不同黄瓜品种的选择性. 植物保护, 31(4):62—64.
- 孔垂华, 1998. 植物化感作用研究中应注意的问题. 应用生态学报, 9(3):332—336.
- 李腾武, 宗静, 高希武, 郑炳宗, 1997. 寄主植物对桃蚜羧酸酯酶和乙酰胆碱酯酶的诱导作用. 植物保护, 23(2):14—16.
- 李云寿, 罗万春, 赵善欢, 1996. 不同寄主植物对小菜蛾羧酸酯酶活性的影响. 山东农业大学学报, 27(2):147—151.
- 罗晨, 张芝利, 2000. 烟粉虱 *Bemisia tabaci* (Gennadius) 研究概述. 北京农业科学, 增刊(烟粉虱专辑):4—13.
- 宋春满, 高家合, 邓建华, 吴兴富, 雷朝亮, 2006. 不同品种烤烟对烟蚜羧酸酯酶和谷胱甘肽转移酶活性的影响. 昆虫知识, 43(3):333—335.
- 张文辉, 刘光杰, 2003. 植物抗虫性次生物质的研究概况. 植物学通报, 20(5):522—530.