

RH-2485 对斜纹夜蛾幼虫生长发育的影响

崔永涛^{1,2}, 林佳¹, 李广宏¹, 王方海^{1*}

(1. 中山大学有害生物控制与资源利用国家重点实验室/昆虫学研究所, 广东广州 510275; 2. 广东天禾农资股份有限公司, 广东广州 510080)

摘要 [目的]了解具有蜕皮激素活性的二酰基胍类化合物 RH-2485 对农业重要害虫斜纹夜蛾 (*Spodoptera litura*) 幼虫生长发育的影响。[方法]分别用 2 μ L 的 1、10、50、100、1 000 mg/L 系列浓度的 RH-2485 点滴处理斜纹夜蛾 3 龄幼虫, 测定幼虫的死亡率、半数致死浓度 (LC₅₀)、发育历期、化蛹率和羽化率等指标。[结果]随着 RH-2485 浓度的升高, 斜纹夜蛾幼虫死亡率也不断升高, 而致死所需时间则不断下降, 100 mg/L 浓度的致死率在 90% 左右, 1 000 mg/L 浓度的致死率为 96.7%。RH-2485 对斜纹夜蛾 3 龄幼虫的 LC₅₀ 为 5.220 91 mg/L。斜纹夜蛾 1 龄、2 龄幼虫对 RH-2485 比较敏感, 但它们之间则无显著差异。[结论]试验结果为田间利用 RH-2485 防治斜纹夜蛾提供了理论依据。

关键词 RH-2485; 斜纹夜蛾; 半数致死浓度; 生长发育

中图分类号 S433.4; Q965 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)04-0140-03

Effects of RH-2485 on Growth and Development of *Spodoptera litura* Larvae

CUI Yong-tao^{1,2}, LIN Jia¹, LI Guang-hong¹ et al (1. State Key Laboratory for Biocontrol, Institute of Entomology, Sun Yat-sen University, Guangzhou, Guangdong 510275; 2. Guangdong Tianhe Agricultural Means of Production Company Limited, Guangzhou, Guangdong 510080)

Abstract [Objective] The aim was to explore the effect of RH-2485, a kind of non-steroids two acyl-hydrazine compounds with molting hormone activity, on the growth and development of *Spodoptera litura*, an important pest of agriculture. [Method] The third instar larvae of *S. litura* were treated with 1, 10, 50, 100 and 1 000 mg/L concentration series RH-2485 respectively, and their larval mortality, median lethal dose, developmental duration, pupation rate and eclosion rate were measured. [Result] With the increase of larvae mortality, the lethal time declined accompanying by elevated RH-2485 concentrations. The mortality was about 90% when the larvae was treated by RH-2485 on 100 mg/L concentration, and the mortality was 96.7% when the larvae was treated by RH-2485 on 1 000 mg/L concentration. The median lethal concentration (LC₅₀) of RH-2485 on the third instar larvae was about 5 mg/L. The first or second instar larvae were sensitive to RH-2485, and there was no significant difference in the susceptibility to RH-2485 of the larvae during the period of the first or second instar. [Conclusion] These results will provide evidence and guidance role for using RH-2485 to prevent and control *S. litura* in the field.

Key words RH-2485; *Spodoptera litura*; Median lethal concentration; Growth and development

蜕皮激素是由昆虫前胸腺分泌的一种多羟基化的固醇类物质, 对昆虫的生长发育、繁殖、蜕皮和变态等具有重要作用^[1]。多年来人们试图将蜕皮激素开发为杀虫剂, 但由于天然蜕皮激素分离和提取比较困难、成本较高等原因, 未能获得成功。因此, 农业生物化学家转而寻找和合成可以模拟蜕皮激素作用的化合物, 进而开发成新的杀虫剂^[2]。二酰基胍类化合物是人工合成的非类固醇类蜕皮激素激活物, 可以与蜕皮激素受体结合, 从而可模拟天然蜕皮激素作用, 引起虫体过早蜕皮。被该类化合物处理的试虫虽能启动蜕皮, 但旧表皮通常不能完全蜕去, 而新表皮又未能完全形成, 并伴有血淋巴流失和后肠脱出等导致死亡的症状^[3]。由于这类化合物的价格相对较低, 且具有一定的专一性, 只作用于特定的节肢动物类群, 特别是鳞翅目昆虫, 对两栖类、鸟类和哺乳类等高等动物则无害, 具有较好的生态安全性, 故近几年在农业害虫的综合防治中得到了越来越多的应用^[4-6]。RH-2485 是由美国 Rohm-Haas 公司合成并发展起来的新型二酰基胍类化合物杀虫剂。

斜纹夜蛾 (*Spodoptera litura*) 是重要的农业大害虫, 属完全变态昆虫, 幼虫经历 6 个龄期, 然后开始化蛹并羽化为成虫, 该虫繁殖能力强, 抗药性强, 很难防治^[7-8]。不同发育时期的幼虫通常对杀虫剂的敏感性不同。鉴于此, 笔者以农业

害虫斜纹夜蛾为试虫, 通过生物测定研究了具有蜕皮激素活性的化合物 RH-2485 对斜纹夜蛾生长发育的影响, 并测定了其具体作用的半数致死浓度、敏感龄期等, 以期为田间利用 RH-2485 防治斜纹夜蛾提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试昆虫。斜纹夜蛾幼虫由中山大学昆虫研究所养虫室提供, 用人工饲料饲养, 人工饲料配方参考陈其津等^[9]、张南等^[10]报道的方法并加以修改, 具体配方: 烘熟并灭菌的黄豆粉 100 g, 烘干并灭菌的麦麸 80 g, 酵母粉 26 g, 干酪素 8 g, 维生素 C 8 g, 氯化胆碱 1 g, 山梨酸 2 g, 胆固醇 0.2 g, 肌醇 0.2 g, 琼脂 26 g。具体配制方法: 称取烘干并灭菌的黄豆粉、麦麸、酵母粉、干酪素, 放入大烧杯中并混匀, 加入 500 mL 蒸馏水浸泡 2 h 以上; 称取维生素 C、氯化胆碱、山梨酸、胆固醇、肌醇, 放入另一小烧杯中, 加入 100 mL 蒸馏水溶解; 将 26 g 琼脂加入 400 mL 蒸馏水并煮沸, 加入大烧杯中的混合物, 再次煮沸后加入 1 mL 甲醛溶液, 待沸腾后停止加热, 稍冷却, 倒入小烧杯中的混合物, 搅拌均匀后趁热倒入饲料盒中, 等完全冷却凝固后, 置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中保存备用。

饲养条件: 温度为 (28 \pm 1) $^{\circ}$ C, 相对湿度为 75% 左右, 光暗周期为 16:8 h。当幼虫饲养到末龄阶段, 待其停止取食准备化蛹时, 移至铺有湿沙的器皿中。待虫蛹快羽化时 (前 2 d), 将其从沙中取出, 雌雄成对移至铺有滤纸的罐头瓶中, 待其羽化和交配, 加入 10% 左右的蜂蜜水补充营养, 每天观察收集产在滤纸上的卵块, 收集到的卵块用 5% 甲醛溶液消

基金项目 广东省自然科学基金项目 (2015A030313114); 国家自然科学基金项目 (311771844)。

作者简介 崔永涛 (1980—), 男, 湖北襄阳人, 农艺师, 硕士, 从事农业昆虫研究。* 通讯作者, 教授, 博士, 从事昆虫学研究。

收稿日期 2017-11-17

毒,放入培养皿中温育孵化。

1.1.2 供试化合物。具有蜕皮激素活性的化合物 RH-2485 购于美国 Rohm-Haas 公司,纯度在 99% 以上。用二甲基亚砷稀释和溶解 RH-2485 粉末,并配制不同浓度梯度的溶液备用。

1.2 方法

1.2.1 RH-2485 对斜纹夜蛾 3 龄幼虫的半数致死浓度 (LC₅₀) 的测定。根据头壳宽度挑选生长发育一致的斜纹夜蛾 3 龄幼虫,分别用 2 μL 的 1 000、100、50、10、1 mg/L 浓度的 RH-2485 点滴在幼虫的前胸背板上。每个浓度处理组共用虫 30 头,重复 3 次,以二甲基亚砷处理组为对照。每日观察幼虫的生长发育情况,并统计其死亡个数。

1.2.2 斜纹夜蛾幼虫对 RH-2485 的敏感龄期的测定。用“1.2.1”项计算出的 RH-2485 的 LC₅₀ 剂量点滴处理不同龄期的幼虫,每个龄期处理 20 头幼虫,重复 3 次,以二甲基亚砷处理组为对照。每天观察并统计各龄期幼虫的死亡率、化蛹率、蛹重、蛹的历期、羽化率、成虫历期及每头雌虫的产卵量等,以幼虫死亡率为主要指标,综合考虑其他指标判定 RH-2485 对斜纹夜蛾幼虫作用的敏感龄期。

1.2.3 斜纹夜蛾幼虫对 RH-2485 的最敏感日龄的测定。由“1.2.2”项可获知 RH-2485 对斜纹夜蛾幼虫作用的敏感龄期,而敏感龄期的幼虫要经历几天才能过渡到下一个龄期。用 RH-2485 LC₅₀ 的剂量点滴处理敏感龄期中不同发育天数的幼虫,每日龄幼虫处理 20 头,重复 3 次,以二甲基亚砷处理为对照。每天观察并统计幼虫的死亡率、化蛹率、蛹重、蛹的历期、羽化率、成虫历期及每头雌虫的产卵量等,以幼虫死亡率为主要指标,综合考虑其他指标判定 RH-2485 对斜纹夜蛾幼虫作用的最敏感日龄。

1.3 数据处理 LC₅₀ 的计算依据张志祥等^[1]的方法。其余各项数据采用 SPSS 12.0 软件进行统计及方差分析。

2 结果与分析

2.1 RH-2485 对斜纹夜蛾 3 龄幼虫作用的 LC₅₀ 结果表明,RH-2485 的浓度越高,斜纹夜蛾幼虫死亡率也越高,1~50 mg/L 浓度的致死率在 23.3%~74.3%,100 mg/L 浓度的致死率在 90% 左右,1 000 mg/L 浓度的致死率为 96.7%。

通过方差分析可知,各浓度的死亡率有显著差异。依据张志祥等^[1]的方法,在 Excel 软件中计算出具有蜕皮激素活性的化合物 RH-2485 对斜纹夜蛾 3 龄幼虫作用的 LC₅₀ 为 5.221 mg/L,毒力回归方程为: $y = 4.332 + 0.931x$,95% 置信度为 2.349~11.605 mg/L。

由图 1 可知,RH-2485 的浓度越高,其处理的 3 龄斜纹夜蛾幼虫的平均致死时间越短。

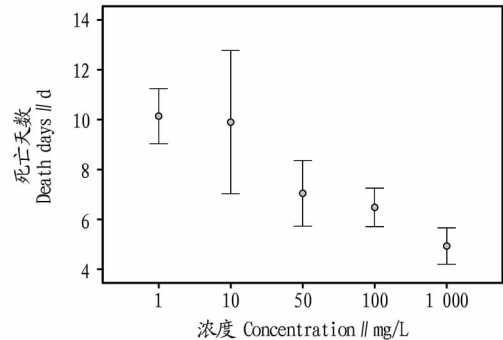


图 1 经不同浓度 RH-2485 处理的斜纹夜蛾 3 龄幼虫致死所需时间

Fig. 1 The lethal time of the third instar larvae of *S. litura* treated by different concentrations of RH-2485

2.2 斜纹夜蛾幼虫对 RH-2485 的敏感龄期 用 5 mg/L RH-2485 处理各龄期的斜纹夜蛾幼虫后,从死亡率上看,1 龄、2 龄幼虫的死亡率最高,两者之间无显著差异,但是与其他龄期相比,死亡率有明显差异。在化蛹率和羽化率上,1 龄和 2 龄幼虫间也无显著差异,但是和其他龄期存在显著差异。各龄期具体比较发现,死亡率、化蛹率和羽化率均值均为 1、2 龄 > 3 龄 > 4 龄 > 5 龄 > 6 龄。在蛹重、蛹的历期、成虫历期、每头雌虫的产卵量几个指标上 1~5 龄幼虫之间无显著差异,但是和 6 龄幼虫之间有显著差异,并且 6 龄的这几个指标要明显高于 1、2 龄幼虫,也就是 1、2 龄幼虫相对 6 龄幼虫来说,蛹较轻,蛹和成虫发育历期更短,每头雌虫的产卵量也更低(表 1)。因此,以死亡率为主要指标,综合其他指标,初步判定,斜纹夜蛾幼虫对 RH-2485 敏感的龄期为 1~2 龄,同时可以发现龄期越大,斜纹夜蛾幼虫对 RH-2485 的敏感性越小。

表 1 RH-2485 (5 mg/L) 对不同龄期幼虫发育的影响

Table 1 Effect of RH-2485 at 5 mg/L on the growth of different instar larvae of *S. litura*

龄期 Age	幼虫死亡率 Larval mortality %	化蛹率 The pupation rate // %	蛹重 Pupa weight mg	蛹历期 Pupa calendar period // d	羽化率 The eclosion rate // %	成虫历期 Adult duration d	每头雌虫产卵量 The spawning of each female // 粒
1	70.3 ± 2.9 a	22.3 ± 2.9 e	435.9 ± 9.0 abcd	11.3 ± 0.6 ab	19.0 ± 5.0 e	10.5 ± 0.9 bc	867.3 ± 48.0 ab
CK ₁	6.7 ± 5.8 fe	93.3 ± 5.8 a	481.7 ± 24.4 a	10.0 ± 1.0 bc	91.7 ± 2.9 a	12.5 ± 0.5 a	981.7 ± 21.0 bc
2	71.7 ± 2.9 a	21.7 ± 2.9 e	409.6 ± 25.6 d	11.7 ± 0.8 ab	18.3 ± 2.9 e	10.7 ± 0.3 c	831.3 ± 27.3 ab
CK ₂	13.3 ± 5.8 e	86.7 ± 5.8 a	471.5 ± 20.3 ab	10.0 ± 1.0 bc	86.7 ± 5.8 a	12.7 ± 0.8 a	979.0 ± 24.8 bc
3	53.3 ± 2.9 b	43.3 ± 5.8 d	420.3 ± 31.5 bcd	11.7 ± 0.8 ab	40.0 ± 5.0 d	10.5 ± 0.5 bc	876.0 ± 26.5 ab
CK ₃	13.3 ± 5.8 e	86.7 ± 5.8 a	467.1 ± 53.8 abc	10.0 ± 1.0 bc	85.0 ± 5.0 a	12.3 ± 1.3 a	959.7 ± 34.5 bc
4	46.7 ± 2.9 bc	51.7 ± 2.9 c	418.5 ± 46.4 cd	10.5 ± 0.5 abc	48.3 ± 2.9 c	11.2 ± 0.6 bc	884.3 ± 26.0 abc
CK ₄	6.7 ± 5.8 fe	93.3 ± 5.8 a	445.6 ± 32.9 abcd	9.8 ± 0.8 c	91.7 ± 2.9 a	12.3 ± 0.3 a	965.0 ± 43.0 c
5	41.7 ± 2.9 cd	56.7 ± 2.9 c	422.6 ± 30.4 bcd	10.5 ± 1.0 abc	53.3 ± 2.9 bc	11.2 ± 0.6 bc	866.0 ± 31.6 abc
CK ₅	6.7 ± 5.8 fe	93.3 ± 5.8 a	461.0 ± 23.7 abcd	10.2 ± 1.0 bc	91.7 ± 2.9 a	12.7 ± 0.8 a	961.3 ± 62.9 bc
6	35.0 ± 5.0 d	65.0 ± 5.0 b	456.7 ± 29.4 abcd	9.8 ± 0.3 c	60.0 ± 5.0 bc	12.3 ± 0.3 ab	919.3 ± 61.6 c
CK ₆	3.3 ± 5.8 f	96.7 ± 5.8 a	485.4 ± 18.6 a	9.8 ± 0.3 c	91.7 ± 2.9 a	12.7 ± 0.8 a	981.3 ± 27.5 c

注:表中数值为平均值 ± 标准误;同列数值后不同字母表示处理间在 0.05 水平差异显著

Note: The data in the table was mean ± SE; the different lowercases at the same column represented significant differences among treatments at 0.05 level

2.3 斜纹夜蛾幼虫对 RH-2485 的最敏感时间 由“2.2”结果可知, RH-2485 对斜纹夜蛾作用的敏感龄期为 1、2 龄幼虫, 这 2 个龄期大约经历 4 d。用接近 RH-2485 的 LC_{50} 的剂量(5 mg/L) 分别处理第 1~4 天的幼虫。由表 2 可知,

5 mg/L RH-2485 处理的这些不同日龄的幼虫在死亡率、化蛹率、蛹重、蛹的历期、羽化率、成虫历期及每头雌虫的产卵量方面均无显著差异。

表 2 浓度为 5 mg/L 的 RH-2485 对 1、2 龄不同发育天数的幼虫发育的影响

Table 2 Effect of RH-2485 at 5 mg/L on the growth of the 1st and 2nd instar larvae of *S. litura*

发育天数 Growth day//d	幼虫死亡率 Larval mortality %	化蛹率 The pupation rate//%	蛹重 Pupa weight mg	蛹历期 Pupa calendar period//d	成虫历期 Adult duration d	羽化率 The eclosion rate//%	每头雌虫产卵量 The spawning of each female//粒
1	71.7±2.9 a	23.3±2.9 b	403.3±7.6 b	11.3±0.6 a	10.7±0.6 b	19.3±1.2 b	820.0±26.5 b
CK ₁	11.7±2.9 b	88.3±2.9 a	456.3±14.3 a	10.3±0.6 b	11.3±0.6 a	86.7±2.9 a	950.0±10.0 a
2	73.0±3.0 a	20.3±2.5 b	411.0±23.3 b	11.5±1.0 a	10.8±1.0 b	17.7±2.5 b	805.0±27.8 b
CK ₂	11.7±2.9 b	88.3±2.9 a	446.7±15.3 a	10.3±0.6 b	11.3±0.6 a	86.7±2.9 a	960.0±18.3 a
3	73.4±3.0 a	22.0±3.0 b	420.3±22.4 b	11.5±0.6 a	10.7±1.0 b	18.6±3.3 b	832.0±27.3 b
CK ₃	10.0±5.0 b	88.3±2.9 a	460.5±18.4 a	10.5±1.0 b	11.5±1.0 a	83.3±3.3 a	942.0±19.5 a
4	73.0±3.0 a	23.3±2.9 b	418.3±13.5 b	11.5±0.8 a	10.5±0.8 b	20.0±3.3 b	829.0±15.6 b
CK ₄	11.7±2.9 b	90.0±2.9 a	448.6±16.3 a	10.3±1.0 b	11.3±1.0 a	88.3±2.5 a	956.6±28.4 a

注:表中数值为平均值±标准误;同列数值后不同字母表示处理间在 0.05 水平差异显著

Note: The data in the table was mean±SE; the different lowercases at the same column represented significant differences among treatments at 0.05 level

3 结论与讨论

已有文献报道,具有蜕皮激素生物活性的非内固醇二酰基胍类化合物 RH-5849^[12-14]、RH-5992^[4,15]、RH-0345^[16]都已经成功开发为杀虫剂,并具有明显效果。RH-5849,商品名称为抑食肼,对许多鳞翅目害虫、部分双翅目和鞘翅目害虫有较好的杀虫效果,目前已经在蔬菜、水果、花卉等经济作物上大范围使用,用来防治害虫,取得了很好的效果。RH-5992,商品名虫酰肼,主要用于防治鳞翅目害虫的幼虫,其毒杀作用比 RH-5849 更强。与 RH-5849 和 RH-5992 相比, RH-0345 对鳞翅目的活性则比较低,但因其具有较强的土壤内吸作用,故对鞘翅目类害虫,如金龟子幼虫和土壤害虫有很好的杀灭效果,在美国主要以商品名 MACH 用于牧草、草皮和观赏植物的害虫防治^[5]。

该试验采用上述系列化合物中的最新产品 RH-2485 处理鳞翅目害虫斜纹夜蛾也同样取得了明显的效果。100 mg/L RH-2485 对 3 龄幼虫的致死率可达 90%, 1 000 mg/L RH-2485 对 3 龄幼虫的致死率为 96.7%。RH-2485 浓度越高,对幼虫的致死时间越短。通过分析得出, RH-2485 对 3 龄幼虫的半致死浓度仅为 5.22 mg/L,半致死剂量(LD₅₀)约为 10 ng,即 1 mg 的剂量就可以杀死 5 万头左右的幼虫。因此可以判定, RH-2485 对斜纹夜蛾幼虫具有很好的防治作用。

斜纹夜蛾幼虫有 6 个不同的发育龄期,用 RH-2485 的半致死浓度剂量处理不同龄期的幼虫,从死亡率上看,1 龄、2 龄幼虫的死亡率最高,两者之间无显著差异,但是与其他龄期相比有显著差异。此外,在化蛹率和羽化率上,1 龄、2 龄幼虫间也无显著差异,但是与其他龄期也存在显著差异。因此,以死亡率为主要指标,可以判定,斜纹夜蛾幼虫对 RH-2485 的敏感龄期为 1、2 龄幼虫,龄期越大,斜纹夜蛾幼虫对 RH-2485 的敏感性越小。根据这些研究结果,认为在田间使用 RH-2485 防治斜纹夜蛾幼虫时,在幼虫发育早期,即 1、2 龄进行施药,将会取得最佳杀虫效果。如果错过这 2 个

龄期,施药则越早越好,因斜纹夜蛾高龄幼虫对药物的敏感性比低龄幼虫要低得多。

参考文献

- [1] 胡启豪,刘学术,马琼,等.保幼激素和蜕皮激素对家蚕翅原基生长分化的影响[J].华南师范大学学报(自然科学版),2017,49(4):62-67.
- [2] SONG G P, HU D K, TIAN H, et al. Synthesis and larvicidal activity of novel theophylline derivatives[J]. Scientific reports, 2016, 6:1-13.
- [3] 杜育哲,郭世宜,王秀玲,等.新型非甾醇蜕皮激素类杀虫剂对棉铃虫幼虫蜕皮的影响[J].昆虫学报,2002,45(6):748-752.
- [4] SOLTANI-MAZOUNI N, HAMI M, GRAMDI H. Sublethal effects of methoxyfenozide on reproduction of the Mediterranean flour moth, *Ephesia kuehniella* Zeller[J]. Invertebrate reproduction & development, 2012, 56(2):157-163.
- [5] 徐志红,李俊凯.双酰胍类昆虫生长调节剂的研究进展[J].江苏农业科学,2015,43(3):5-10.
- [6] ALI Q, UL HASAN M, MASON L J, et al. Biological activity of insect growth regulators, pyriproxyfen, lufenuron and methoxyfenozide against *Tribolium castaneum* (Herbst)[J]. Pakistan journal of zoology, 2016, 48(5):1337-1342.
- [7] 丘雪红,韩日畴.冬虫夏草寄主蝠蛾天然饲料珠芽蓼对小菜蛾、斜纹夜蛾生长发育的影响[J].环境昆虫学报,2016,38(1):54-60.
- [8] 王容燕,马娟,李秀花,等.防治斜纹夜蛾高效药剂及复配配方筛选[J].农药,2017,56(8):603-605.
- [9] 陈其津,李广宏,庞义.饲养五种蛾科昆虫的一种简易人工饲料[J].昆虫知识,2000,37(6):325-337.
- [10] 张南,陈巨龙,仵均祥.斜纹夜蛾半人工饲料的改进[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2016,44(4):109-113.
- [11] 张志祥,徐汉虹,程东美. EXCEL 在毒力回归计算中的应用[J].昆虫知识,2002,39(1):67-70.
- [12] DARVAS B, POLGAR L, ELDIN M H, et al. Developmental disturbances in different insect orders caused by an ecdysteroid agonist, RH5849[J]. J Econ Entomol, 1992, 85(6):2107-2112.
- [13] COWLES R S, VILLINI M G. Susceptibility of Japanese beetle, oriental beetle and European chafer (Coleoptera: Scarabaeidae) to halofenozide, an insect growth regulator[J]. J Econ Entomol, 1996, 89(6):1356-1365.
- [14] YANG Z B, HU D Y, ZENG S, et al. Novel hydrazone derivatives containing pyridine amide moiety: Design, synthesis, and insecticidal activity[J]. Bioorganic & medicinal chemistry letters, 2016, 26(4):1161-1164.
- [15] KONTOGIANNATOS D, SWEVERS L, ZAKASIS G, et al. The molecular and physiological impact of bisphenol A in *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae)[J]. Ecotoxicology, 2015, 24(2):356-367.
- [16] AMIRA K, BOUDJELIDA H, FARINE J P. Effect of an insect growth regulator (halofenozide) on the cuticular hydrocarbons of *Culex pipiens* larvae[J]. African entomology, 2013, 21(2):343-348.