

灭幼脲Ⅲ号对菜粉蝶卵和幼虫 生物活性的研究

王凤葵 雷曼¹⁾ 张巧英²⁾

(西北农业大学植保系)

摘 要

国产25%灭幼脲Ⅲ号胶悬剂在供试浓度范围内(0.25—250ppm)对菜粉蝶(*Pieris rapae* L.)有较强的生物活性。可抑制卵的孵化并引起初孵幼虫死亡,幼虫龄期愈小对药剂愈敏感。幼虫死亡多发生在脱皮和化蛹阶段。少数幼虫进入蛹期后继续死亡或不能正常羽化,呈“半蛹一半成虫”态。幼虫期浸体法施药效果好于浸叶饲喂法。受药幼虫几丁质合成受抑,含量减少,内表皮变薄并出现剥离和断裂,脂肪体碎裂、崩坏以至消失。

关键词: 灭幼脲Ⅲ号; 菜粉蝶; 卵; 幼虫; 生物活性; 毒性; 内表皮; 脂肪体

灭幼脲是一类高效、高选择性的昆虫几丁质合成抑制剂。我国于70年代中期开始合成,现已有灭幼脲Ⅰ号、Ⅱ号和Ⅲ号等制剂。国内已相继研究了灭幼脲类化合物对玉米螟、粘虫和美国白蛾等农林害虫的毒性及几丁质的抑制作用^[1-4]。作者于1985年和1986年测定了幼脲Ⅲ号对菜粉蝶卵和幼虫的生物活性,并进而研究了受药幼虫的组织病理学变化。本文报道两年来的主要研究成果。

I 材料与方法

1.1 供试昆虫与药剂

供试昆虫为采自田间未经用药的菜粉蝶(*Pieris rapae* L.)卵及室内饲养所获得的1~5龄健康幼虫。供试药剂为吉林通化化工研究所提供的25%灭幼脲Ⅲ号胶悬剂。

1.2 试验方法

1.2.1 灭幼脲Ⅲ号对菜粉蝶卵和幼虫效果的测定: 供试药剂稀释成250, 25, 2.5, 0.25ppm等不同浓度的药液,按两种不同方法施用: ①浸体法。把未经用药的健康的菜粉蝶卵和1~5龄幼虫放入药液中浸泡3秒钟,取出晾干后放入温度为20~24℃,相对湿度为70~80%的养虫箱内饲养,每隔24小时观察记载一次,连续观察6天。②浸叶饲喂法。取新

本文于1986年9月27日收到。

1) 81级学生。2) 82级学生。

鲜的甘兰叶,洗净晾干后,放入各浓度药液中浸泡5分钟,取出晾干后,饲喂饥饿处理6小时的不同龄期的幼虫,24小时后将幼虫移入同浸叶法相同的条件下饲养,观察与记载亦相同。

1.2.2 幼虫体壁几丁质含量的测定:取3龄和5龄幼虫分别用浸叶饲喂法施药,4天后将中毒和刚死亡的幼虫放入 Bouin 固定液中固定,不施药昆虫用同法固定,3天后用80%酒精浸泡已固定的幼虫以清除固定液,更换数次直至洗净为止。从每条洗净的虫体上各取0.5cm的体壁按赵玲^[3]提出的方法称取供试标本体壁及几丁质干重。

1.2.3 组织病理学观察:用各种浓度药液浸叶饲喂各龄幼虫4天后,将出现中毒症状和刚死亡的幼虫放入冷水中徐徐加热至70℃并持续20分钟,取出后用 Bouin 氏固定液固定24小时,固定后的幼虫用酒精充分洗净,并切去头部和尾部两节,剩留部分经80%、95%和100%的系列酒精液以及无水酒精和二甲苯等量混合液逐级脱水,再用二甲苯透明,最后以54~56℃石蜡包埋。用旋转式切片机制片(厚度10μm),再用偶氮洋红—酒精苯胺兰—桔黄G—快绿四重染色法染色。在 Nikon 显微镜下观察,测量内表皮厚度并拍照。

2 试验结果与分析

2.1 灭幼脲Ⅲ号对卵的生物活性

菜粉蝶卵用供试各浓度的灭幼脲Ⅲ号处理后,孵化率都明显降低。用0.25ppm处理的孵化率仅为26%,比对照降低72%,且有半数初孵幼虫死亡,用25ppm处理的孵化率更低,初孵幼虫全部死亡(表1)。灭幼脲Ⅲ号可能抑制了胚胎发育过程中的几丁质的合成,使卵不能正常发育而死亡。低浓度下部分卵的发育虽已受抑,但尚能孵化,但初孵幼虫有吞食卵壳的习性,这样也吞食了卵壳表面残留的药剂,初孵幼虫便相继死亡。

表1 灭幼脲Ⅲ号对卵及初孵幼虫的毒效

药剂浓度 (ppm)	处理卵数 (粒)	死亡卵数 (粒)	孵化率 (%)	孵化率降低 (%)	初孵幼虫死亡率 (%)
25	100	97	3	96.7	100
2.5	100	86	14	85.9	100
0.25	100	74	26	72.0	50
对 照	100	7	93	—	0

2.2 灭幼脲Ⅲ号对幼虫的生物活性

2.2.1 药剂处理后幼虫的症状:2龄及3龄幼虫在处理1~2天活动正常,由第3天起表现明显症状,活动迟缓,第4天体表出现液体小滴,以后虫体逐渐变黑,在脱皮前死亡。用较高浓度(2.5ppm和25ppm)处理的3龄幼虫躯体变粗,头胸保持幼虫态,腹背呈蛹态,即呈“半幼虫—半蛹”中间型。4龄及5龄幼虫在处理第2天即表现活动迟缓,第3天取食减少,常缓慢爬至饲养器边缘,以头朝下尾朝上的姿态滞留,多数虫体胸腹间出现缢缩,头壳、胸、腹部的脱皮过程不同程度地受阻,有些虽能脱皮但因新表皮薄而易破,体液

外流，虫体黑化死亡。少数幼虫可化蛹，但蛹体较小（药剂处理者平均蛹长1.60cm，未施药对照平均为1.95cm），蛹重较轻（药剂处理者平均蛹重为0.14 g，未施药对照平均为0.20g），多数蛹体逐渐干缩而死。个别蛹可达到羽化期，但蛹壳不能全部脱下，呈“半蛹一半成虫”中间型，极个别蛹虽可羽化，但翅短，出现翅褶等畸变。

2.2.2 灭幼脲Ⅲ号对幼虫的生物活性：灭幼脲Ⅲ号在试验浓度范围内对各个龄期的幼虫均有较高的毒效；死亡率高达73.1~100%。相同龄期幼虫，药液浓度愈高死亡率也愈高。不同龄期幼虫，龄期愈小对药剂愈敏感（表2）。

表2 灭幼脲Ⅲ号处理后各龄幼虫死亡率¹⁾

药液 浓度 (ppm)	试 验 虫 数 (头)	1 龄		2 龄		3 龄		4 龄		5 龄	
		死亡 虫数 (头)	死亡 率 (%)	死亡 虫数 (头)	死亡 率 (%)	死亡 虫数 (头)	死亡 率 (%)	死亡 虫数 (头)	死亡 率 (%)	死亡 虫数 (头)	死亡 率 (%)
250	26	26	100	26	100	25	96.2	24	92.3	21	80.7
25	26	26	100	25	96.2	24	92.3	22	84.6	20	76.9
2.5	26	26	100	25	96.2	23	88.5	21	80.7	19	71.1
对照	26	1	3.8	0	0	0	0	0	0	0	0

注：1) 处理6天后的结果。
2) 5龄幼虫死亡虫数及死亡率包括化蛹后死亡数及死亡率。

浸体法和浸叶饲喂法两种施药方法比较表明，浸体法处理后幼虫死亡快，亦即达到相同的死亡率，浸体法施药比浸叶法施药要早（图1）。

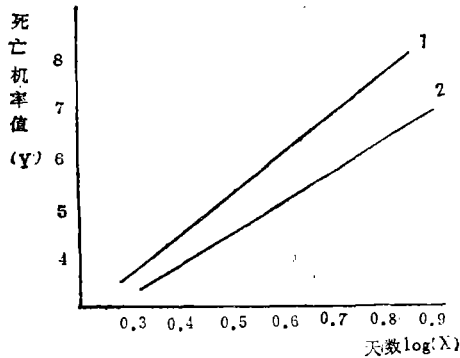


图1 药剂作用时间死亡率的关系

1— $y_1 = 1.517 + 7.301x$; 2— $y_2 = 1405 + 5.879x$;
注： y_1 为浸体法不同时间死亡率机值；
 y_2 为浸叶法不同时间死亡率机值；
 x 为药剂处理时间的对数值

2.2.3 灭幼脲Ⅲ号处理后幼虫的主要死亡时期：250ppm灭幼脲Ⅲ号施药后连续观察表明，4龄幼虫在脱皮阶段的死亡率占总死亡率的62.5%，5龄幼虫“半幼虫一半蛹”阶段死亡率占总死亡率的73.8%，可见幼虫死亡主要发生在脱皮阶段和化蛹阶段。

2.3 体壁中几丁质含量的变化

用25ppm和250ppm灭幼脲Ⅲ号处理3龄和5龄幼虫，体壁中几丁质的形成均受到抑制其相对重量减少。同一龄期，浓度越高，抑制率越高。浓度相同，5龄幼虫比3龄幼虫抑制率高（表3）。

2.4 幼虫的组织病理学观察

石蜡切片的显微观察发现受药幼虫内表皮和脂肪体有明显病变。

2.4.1 内表皮的变化：未处理的正常幼虫，体

表3 灭幼脲Ⅲ号对几丁质的抑制作用

药液浓度 (ppm)	3 龄 幼 虫		5 龄 幼 虫	
	几丁质相对重量(%)	几丁质抑制率(%)	几丁质相对重量(%)	几丁质抑制率(%)
250	6.79	21.1	13.5	31.7
25	7.12	20.3	14.8	25.5
不施药对照	8.94	—	19.8	—

(2几丁质抑制率 = $\frac{\text{对照组幼虫几丁质重量} - \text{施药组幼虫几丁质重量}}{\text{对照组幼虫几丁质重量}} \times 100\%$)

壁层次清楚，由内向外是基底膜，真皮细胞层和表皮层组成。其中基底膜最薄，真皮细胞层由一层清晰可见的细胞组成，表皮层由内向外又由内表皮（组织切片呈蓝色），外表皮（呈红色）和上表皮（呈紫色）等层次组成。上表皮最薄，厚度只有1μm左右，外表皮稍厚，内表皮最厚，可达17~37μm。上述表皮层中各层次紧密结合到一起）图2）。

灭幼脲Ⅲ号处理后的幼虫，内表皮的厚度明显变薄，其变薄的程度（几丁质的抑制率）与幼虫的龄期和药剂的浓度有关，即同一药剂，龄期愈高，变薄愈明显；龄期相同，浓度愈高，内表皮愈薄（表4）。

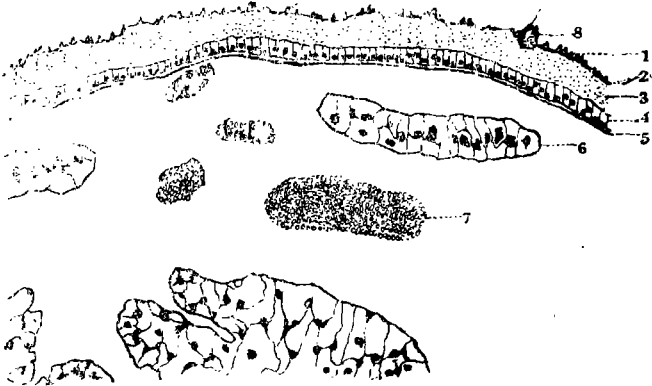


图2 未处理的正常幼虫体壁脂肪体（×200）

- 1.上表皮；2.外表皮；3.内表皮；4.真皮细胞层；5.基底膜，
6.脂肪体；7.肌肉；8.刚毛

表4 灭幼脲Ⅲ号处理 4 天后内表皮厚度

药液浓度 (ppm)	幼 虫 内 表 皮 厚 度 (U)			
	2 龄	3 龄	4 龄	5 龄
250	6.6	6.9	7.1	7.3
25	9.1	7.3	7.2	7.5
2.5	9.2	14.7	14.1	11.9
0.25	9.2	15.9	15.8	12.6
不施药对照	18.2	34.2	34.8	36.9

内表皮许多部位还出现损伤和结构异常。第一，内表皮和外表皮互相剥离，结构松散。第二，内表皮厚薄不均，在多个部位发生断裂，出现内表皮缺如的部位。第三，内表皮与外

表皮剥离的空隙处出现小球状凝结物(图3)。

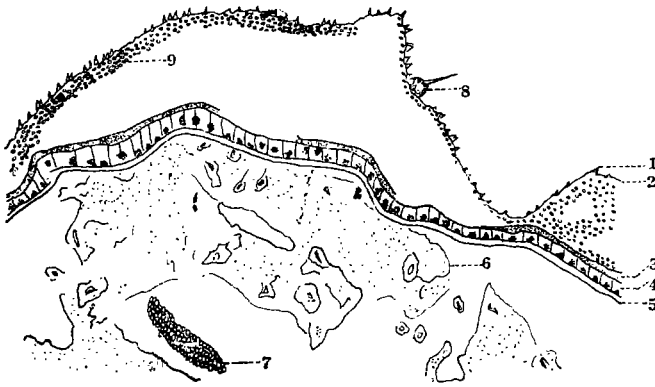


图3 药剂处理4天后幼虫体壁与脂肪体(×200)

- | | | |
|----------|--------|----------|
| 1.上表皮; | 2.外表皮; | 3.内表皮; |
| 4.真皮细胞层; | 5.基底膜; | 6.脂肪体; |
| 7.肌肉; | 8.刚毛; | 9.小球状凝结物 |

注:1)几丁质相对重量=(几丁质重量/体壁重量)×100%。

2.4.2 脂肪体的变化:未经用药的正常幼虫,切片中脂肪体呈淡黄至棕黄色,细胞核呈暗绿色。脂肪体由多个细胞组织,呈“多叶片”的不规则团状结构,外面有固有膜包被。脂肪体随机分布在消化道与体壁之间(图2)。

经灭幼脉Ⅲ号处理的幼虫,多数脂肪体固有膜破裂。浓度较低时,脂肪体破裂成无固定形状的小块分散于体腔空隙中,浓度较高时,脂肪体崩坏成碎屑状以至消失殆尽(图3)。

3 讨 论

菜粉蝶是十字花科蔬菜和油菜的主要害虫,在生产上一直使用有机磷等杀虫剂防治。该虫世代重叠严重,需在蔬菜生长期多次施药才能控制为害。这样,不仅杀伤了大量天敌,诱发害虫抗药性的产生,而且还严重地污染了作物和环境。为满足人们对无公害蔬菜的需求,急需开发高效、低毒、低残留而无害于环境的新型农药。作者的研究表明,国产灭幼脉Ⅲ号对菜粉蝶卵和各龄幼虫都有较高毒效,幼虫期施药还能抑制蛹的发育和成虫的羽化。灭幼脉Ⅲ号原料来源容易,合成路线简单,成本较低,因此,灭幼脉Ⅲ号可望作为菜粉蝶综合防治系统中的关键药剂在生产上推广使用。

灭幼脉系取代苯基甲酰基脲类化合物,为几丁质合成抑制剂。在本研究中用灭幼脉Ⅲ号处理菜粉蝶幼虫,体壁中几丁质含量显著减少,体壁变薄,表面张力减弱,缺乏硬度,承受不了自身发育或变态时的内部压力,不能脱掉旧皮或使表皮破裂而死。受药幼虫多数在脱皮和化蛹时死亡,少数虽能化蛹,但蛹体减小不能羽化,呈“半蛹一半成虫”状态而死。

研究灭幼脉Ⅲ号处理后昆虫组织病理学变化,对了解其作用机制有重要意义。国内尚未见有这方面的研究报道。作者以菜粉蝶为试材进行了初步探索。菜粉蝶幼虫经灭幼脉Ⅲ号处理后,内表皮变薄,与外表皮互相剥离,在多个部位断裂或缺如,这与国外对多种昆虫的研究结

果一致^[5,6]。此外,作者还观察到受药幼虫脂肪体破裂和崩坏,这一现象国内外迄今均无报道,其病理学意义有待于进一步探索。

另外,本研究中受药幼虫内,外表皮剥离形成的空隙间,出现一种小球状凝结物。这证实了 Salama 等人^[6]在灭幼脉 I 号处理的舞毒蛾 *Porthetria dispar* L. 幼虫体壁中观察到小球状凝结物的研究结果。他们认为表皮中几丁质与蛋白质相化合而存在,受灭幼脉作用后,几丁质含量减少,但蛋白质含量未受影响,过剩的蛋白质凝结成小球溢出,而对这种蛋白质凝结物的作用尚未有定论。

参 考 文 献

- 1 陈沛、弓惠芳、王瑞、连梅力. 灭幼脉类及昆虫保幼激素类似物对玉米螟卵的生物活性. 植物保护学报. 1982(1): 35-40
- 2 陈沛、弓惠芳、王瑞、夏志红. 灭幼脉类对玉米螟幼虫的生物活性及防治效果. 植物保护学报. 1982(4): 217-221
- 3 赵玲、梁成杰. 灭幼脉I号和III号对美国白蛾几丁质的抑制作用. 植物保护. 1983(6): 21-22
- 4 沈晋良、谭福杰. 灭幼脉I号及类似物对粘虫生长发育的毒性研究. 植物保护学报. 1981(3): 210-212
- 5 小池久義. 昆虫 $\text{Ch}\text{-}\text{CH}_3$ 合成阻害剂. 植物防疫, 1978(11): 447-454
- 6 Salama H S, Motagally Z A, Skatulla U 著, 刘瑞林译. 灭幼脉I号作为脱皮抑制剂在一些鳞翅目昆虫中的作用方式. 昆虫激素. 1982(2): 57-64

BIOACTIVITY TEST WITH NO. III MIEYOUNIAO AGAINST EGG AND LARVA OF *Pieris rapae* L.

Wang Feng kui Lui Man Zhang Qiaoying

(Department of Plant Protection, Northwestern Agricultural University)

Abstract

The 25% colloidal suspension of No. III Mieyouniao—an insect chitin synthesis inhibitor, in its test concentration range of 0.25-250 ppm in lab test has a high bioactive against *pieris rapae* L. It can prevent its eggs from hatching and cause the 1st-5th instar larvae to die. The younger the larva is, the more sensitive to its toxicity the larva is. The death of larvae occurred chiefly during the moulting and pupating stages. After a few larvae came into the pupating stage, they continue to die or they can not emerge appearing to be in the state of "half pupa and half adult". In the larva stage, the effect of application of suspension of No. III Mieyouniao by dipping is better than that by feeding them with leaves soaked. Thus, the synthesis of chitin in the poisoned larvae is inhibited with its contents reduced so that the endocuticle of poisoned larvae become thinner, denuded and broken. Also, the fat-bodies become denuded, broken and disappeared.

Key words: No. III mieyouniao (insect chitin synthesis inhibitor)

Pieris rapae L.; egg; larva; bioactivity; toxicity; endocuticle
fat body