



# Formosan Entomologist

Journal Homepage: [entsocjournal.yabee.com.tw](http://entsocjournal.yabee.com.tw)

## Effect of Bruchid-resistant Mungbean on Survival and Development of *Spodoptera litura* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae) 【Research report】

### 抗豆象綠豆對斜紋夜盜 (*Spodoptera litura* Fabricius) 存活與發育之影響 【研究報告】

Lu Ken, Huei-Yi Hsu and Shwn-Bin Horng\*

耿璐、許惠怡、洪淑彬\*

\*通訊作者E-mail: [sbhorng@ntu.edu.tw](mailto:sbhorng@ntu.edu.tw)

Received: 2003/11/19 Accepted: 2004/09/20 Available online: 2004/09/01

#### Abstract

VrD1 (*Vigna radiata* Defensin 1) isolated from mungbean is the first plant defensin found to exhibit insecticidal effects. The aim of this study was to confirm the existence of a resistant substance in the mungbean and to characterize its resistance to *Spodoptera litura* F., an important pest in tropical areas. Hence the effect and mechanism of the resistant substance in the mungbean which is capable of being developed into a bioinsecticide or a transgenic crop could be evaluated. Artificial diets containing 5.26% of susceptible (VC1973A) or resistant mungbean (VC6089A) powders were provided to feed the first, second, and fourth instar larvae of *S. litura*, and the mortality, growth, and development of different stages of this insect were recorded. Larvae fed a diet without mungbean was served as a control group. Results showed that all the first instar larvae survived on the control diet, while diets containing susceptible or resistant mungbean powders caused 100% mortality to the first instar larvae. Feeding tests with the second and fourth instar larvae showed that the mortality of the immature stages significantly increased in the order of the control, susceptible, and resistant mungbean group. It was also observed that the diets containing the susceptible or resistant mungbean powder significantly extended the development period and decreased the fresh weight of the larvae and pupae. However, the second instar larva, which survived and consumed the diets with mungbean powder for a longer period, may have extended its development period in order to increase its body weight to a normal level in the final instar or pupal stages. These tests revealed that the resistant substance in the mungbean exhibits an insecticidal effect, and also has an inhibitory effect on the growth of *S. litura* larvae. Since the concentration of VrD1 in the diets with susceptible or resistant mungbeans was no more than 0.0063%, conducting bioassays with diets containing VrD1 is crucial for clarifying its resistance effect on *S. litura* in the future.

#### 摘要

自抗豆象綠豆中純化之綠豆防禦素VrD1 (*Vigna radiata* Defensin 1) 是首次被報導對豆象具有殺蟲作用之植物防禦素。為瞭解抗豆象綠豆是否對斜紋夜盜 (*Spodoptera litura* Fabricius) 亦具抗性作用，以作為探討綠豆抗蟲物質之殺蟲範圍及作用之基礎。本研究將不含綠豆粉、含5.26% 感豆象品系 (以下簡稱感蟲品系) 的綠豆粉 (VC1973A) 及含5.26% 抗豆象品系 (以下簡稱抗蟲品系) 之綠豆粉 (VC6089A) 等三種飼料分別餵食一齡第一天、第二天及二齡、四齡的斜紋夜盜幼蟲，觀察其生長、發育及死亡情形直到成蟲羽化。結果發現含感蟲或抗豆象綠豆粉處理組之飼料對一齡幼蟲影響最大，餵食含綠豆粉飼料一天後其死亡率已達100%。二齡及四齡幼蟲的處理，則除了殺蟲的效果外，在抑制生長及發育上也有顯著影響；二齡幼蟲處理組中，幼蟲死亡率分別是抗豆象綠豆組>感蟲綠豆組>對照組，另外在各齡期發育日數及體重方面，也是以抗豆象綠豆組發育最遲緩，體重也最輕，感蟲綠豆組次之，對照組則發育最快，體重最重；四齡幼蟲處理組的結果與二齡處理組類似，不過因為二齡蟲組接受餵食含綠豆粉的飼料時間較長，因此幼蟲有藉延長發育期來加以補償，而達到相同體重的情形。從試驗結果推論，抗豆象綠豆中具有對斜紋夜盜有顯著抗蟲效果之抗蟲物質，在含抗豆象綠豆粉飼料中，VrD1濃度最高約僅0.0063%，因此以VrD1進行生物檢定方能釐清造成斜紋夜盜死亡及抑制發育之原因；另外綠豆抗蟲物質不只影響較小齡期的幼蟲，對較大齡期的幼蟲也有顯著影響。基於抗豆象綠豆試驗之結果，影響抗蟲作用之主要物質及其機制，值得進一步之比較研究，加以釐清。

**Key words:** resistant mungbean, *Spodoptera litura*, resistant substance, resistance

**關鍵詞:** 抗豆象綠豆品系、斜紋夜盜、綠豆抗蟲物質、抗蟲作用

Full Text:  [PDF \(0.58 MB\)](#)

下載其它卷期全文 Browse all articles in archive: <http://entsocjournal.yabee.com.tw>

# 抗豆象綠豆對斜紋夜盜 (*Spodoptera litura* Fabricius) 存活與發育之影響

耿璐 許惠怡 洪淑彬\* 國立台灣大學昆蟲學研究所 台北市羅斯福路四段 113 巷 27 號

## 摘要

自抗豆象綠豆中純化之綠豆防禦素 VrD1 (*Vigna radiata* Defensin 1) 是首次被報導對豆象具有殺蟲作用之植物防禦素。為瞭解抗豆象綠豆是否對斜紋夜盜 (*Spodoptera litura* Fabricius) 亦具抗性作用，以作為探討綠豆抗蟲物質之殺蟲範圍及作用之基礎。本研究將不含綠豆粉、含 5.26% 感豆象品系 (以下簡稱感蟲品系) 的綠豆粉 (VC1973A) 及含 5.26% 抗豆象品系 (以下簡稱抗蟲品系) 之綠豆粉 (VC6089A) 等三種飼料分別餵食一齡第一天、第二天及二齡、四齡的斜紋夜盜幼蟲，觀察其生長、發育及死亡情形直到成蟲羽化。結果發現含感蟲或抗豆象綠豆粉處理組之飼料對一齡幼蟲影響最大，餵食含綠豆粉飼料一天後其死亡率已達 100%。二齡及四齡幼蟲的處理，則除了殺蟲的效果外，在抑制生長及發育上也有顯著影響；二齡幼蟲處理組中，幼蟲期死亡率分別是抗豆象綠豆組、感蟲綠豆組、對照組，另外在各齡期發育日數及體重方面，也是以抗豆象綠豆組發育最遲緩，體重也最輕，感蟲綠豆組次之，對照組則發育最快，體重最重；四齡幼蟲處理組的結果與二齡處理組類似，不過因為二齡蟲組接受餵食含綠豆粉的飼料時間較長，因此幼蟲有藉延長發育期來加以補償，而達到相同體重的情形。從試驗結果推論，抗豆象綠豆中具有對斜紋夜盜有顯著抗蟲效果之抗蟲物質，在含抗豆象綠豆粉飼料中，VrD1 濃度最高約僅 0.0063%，因此以 VrD1 進行生物檢定方能釐清造成斜紋夜盜死亡及抑制發育之原因；另外綠豆抗蟲物質不只影響較小齡期的幼蟲，對較大齡期的幼蟲也有顯著影響。基於抗豆象綠豆試驗之結果，影響抗蟲作用之主要物質及其機制，值得進一步之比較研究，加以釐清。

**關鍵詞：**抗豆象綠豆品系、斜紋夜盜、綠豆抗蟲物質、抗蟲作用

## 前言

植物抗蟲物質的研究與應用是目前非常受重視的課題，如蛋白酶抑制物 (protease

inhibitor) (Broadway and Duffey, 1986) 以及澱粉水解酵素抑制物 (amylase inhibitor) (Huesing *et al.*, 1991)，都是重要的研究對象。而綠豆防禦素 VrD1 (*Vigna*

\*論文聯繫人  
e-mail: sbhorng@ntu.edu.tw

*radiata* Defensin 1) 即是純化自綠豆 (*Vigna radiata*) 中的一種抗蟲蛋白，是由抗豆象綠豆 VC6089A (以下簡稱抗蟲綠豆) 對應感豆象綠豆 VC1973A (以下簡稱感蟲綠豆) 所分離出來的。一般植物防禦素 (plant defensin) 僅能對抗細菌、真菌等病原微生物的入侵，而 VrD1 除可抑制病原微生物外，還具有抗蟲作用，是第一個發現具有抗蟲活性的植物防禦素 (Chen *et al.*, 2002b; Lin, 2004)。目前的研究發現 VrD1 對綠豆象 (*Callosobruchus chinensis*) 及四紋豆象 (*C. maculatus*) 有顯著的殺蟲效果 (Chen *et al.*, 2002b)，以含有 0.2% VrD1 的人工豆餵養綠豆象或四紋豆象，即可完全抑制其幼蟲的發育，而用抗豆象綠豆飼養的四紋豆象死亡率達 96% 以上 (Chen *et al.*, 2002b; Lin, 2004)。

為探討 VrD1 發展為生物性殺蟲劑或轉殖為抗蟲作物的潛力，首先應對其抗蟲範圍及作用加以瞭解。由於 VrD1 可抑制微生物生長，以大腸桿菌生產 VrD1 之表現不佳，而以綠豆純化產量有限，因此在探討 VrD1 之應用可行性前，先以感蟲及抗豆象綠豆粉加入人工飼料進行試驗是不可避免的途徑。此種試驗的結果將可確定抗豆象綠豆中是否存在對受試昆蟲具抗性作用之抗蟲物質，並瞭解其對不同齡期昆蟲之抗性作用如何；在確定抗蟲物質存在及其作用下，將可妥適地規劃試驗，以 VrD1 對受試昆蟲進行生物檢定，進一步釐清抗蟲物質之種類與作用，而能節省人力和 VrD1 的用量。此外，瞭解綠豆抗蟲物質之作用亦將有助於其抗蟲機制之探討，並可作為防治之參考。

斜紋夜盜 (*Spodoptera litura* Fabricius) 是分布在東南亞地區的一種重要害蟲，在臺灣，自日據時代就開始有其危害的記錄。斜紋夜盜蛾的食性雜，幼蟲會啃食多種作物且食量龐大，造成嚴重的農業損失 (Waterhouse,

1997)。長久以來所用來防治該害蟲的農藥已超過 16 種之多，在某些地區也已出現抗藥性 (Cheng, 1984)，所以開發新的防治方法為目前的一項重要工作。因此本試驗的主要目的是探討含抗蟲綠豆粉之人工飼料對斜紋夜盜蛾存活、生長及發育等方面的影響，進而評估該種綠豆品系中是否存在可用於防治斜紋夜盜的抗蟲物質，並釐清其對不同蟲期的抗性作用，以期進一步探討此物質之功能、機制及其應用之可行性。

## 材料與方法

### 一、供試蟲源及綠豆

試驗用的感蟲綠豆 (*Vigna radiata* VC1973A) 及抗豆象綠豆 (*V. radiata* VC6089A) 均由亞洲蔬菜研究發展中心 (AVRDC) 培育提供；VC6089A 是以野生抗豆象品系 TC1966 作為父本，以栽培種綠豆品系 VC1973A 為母本，雜交後經過多次回交及自交，每代篩選具有抗性的後代，所培育獲得的 (Chen *et al.*, 2002a)。而 VC6089A 和 VC1973A 的基因組差異只有 1%，抗蟲蛋白 VrD1 的表現量已知前者為後者的 3 倍。

所用的斜紋夜盜 (*S. litura*) 是由野外採回，並在實驗室經過數代的飼養。幼蟲飼養於 30 孔盒中，以人工飼料餵食 (Shih, 1995)；成蟲則飼養於大型塑膠桶中，餵以 30% 的蜜水。飼養及試驗環境皆為 25°C、75 ± 5% RH、12:12 (D:L)。

### 二、一齡斜紋夜盜幼蟲在不同人工飼料中之存活

為瞭解抗豆象品系綠豆對斜紋夜盜的抗性作用，並避免營養不均衡之影響，試驗中，以綠豆粉取代 Shih (1995) 之斜紋夜盜人工

飼料配方中之黃豆粉 (佔全重之 5.26%)，分別配置不含綠豆粉 (對照組)、含 5.26% 感蟲綠豆粉 (即感蟲綠豆組) 及含 5.26% 抗豆象綠豆粉 (即抗豆象綠豆組) 三種人工飼料，共三種處理。以直徑 3.5 cm 之塑膠培養皿為飼養容器，分別置入足量飼料及接入一齡第 1 及第 2 日齡的斜紋夜盜幼蟲，且每處理 24 隻，每天觀察記錄其死亡情形，以比較不同處理間幼蟲存活率之差異。

### 三、二齡斜紋夜盜幼蟲在不同人工飼料中之存活及發育

分別配置不含綠豆粉 (對照組)、含 5.26% 感蟲綠豆粉 (VC1973A) 及含 5.26% 抗豆象綠豆粉 (VC6089A) 等三種人工飼料，共為三種處理。將二齡幼蟲飼養於直徑 3.5 cm 之塑膠培養皿，每天置換足量飼料並觀察其死亡情形，每處理 4 重複，每重複 6 隻。待其三齡時再放入六合一培養皿 (Greiner, plaque 6 units) 分別飼養，每兩天觀察記錄並統計其死亡率、蟲重及各齡期的發育天數；開始化蛹後，每兩天觀察記錄並統計其化蛹天數、化蛹率、蛹期天數及羽化率。除比較各不同處理間各齡期之死亡率外，就不同生長期之蟲重、發育天數進行變方分析比較，若差異顯著，則以最小顯著差異法 (least significant difference, LSD) 比較其平均値之差異顯著性 (SAS, 1996)。

### 四、四齡斜紋夜盜幼蟲在不同人工飼料中之存活及發育

分別配製不含綠豆粉 (對照組)、含 5.26% 感蟲綠豆粉及含 5.26% 抗豆象綠豆粉三種人工飼料，共為三處理。以六合一培養皿為飼養容器，分別置入足量飼料及接入四齡斜紋夜盜幼蟲，每重複 6 隻，各處理皆為 2 重複。每天

觀察並記錄其死亡情形及蟲重，化蛹之後每天觀察並記錄化蛹率、蛹重及羽化率。此外，由於不同處理間幼蟲之體重差異極顯著，亦計算幼蟲之相對生長率 (Waldbauer, 1968)，即以飼養期間增加之體重 (g) 除以原蟲重 (g) 再除以歷經之天數 (day)，以比較不同處理間幼蟲之相對生長情形。

## 結 果

### 一、一齡斜紋夜盜幼蟲在不同人工飼料中之存活

斜紋夜盜之一日齡或二日齡幼蟲，均無法在含抗豆象綠豆和感蟲綠豆之人工飼料中存活，死亡率皆為 100%，且均於放入飼料後的第一天即死亡，但在不含綠豆粉的人工飼料中，死亡率則皆為 0% (表一)。

### 二、二齡斜紋夜盜幼蟲在不同人工飼料中之存活及發育

斜紋夜盜二齡幼蟲接入 3 種人工飼料後，各齡期之累積死亡率如表二。含抗豆象綠豆粉組幼蟲在二齡時即有 18.3% 死亡，至化蛹前死亡率達 37.5%，與含感蟲綠豆粉組化蛹前累積死亡率 (30.0%) 沒有顯著差異，但兩者顯著高於對照組 (8.3%) ( $p < 0.05$ )。至化蛹時，含抗豆象綠豆粉組死亡率達 56.7%，高於含感蟲綠豆粉組之 38.3%，而與對照組之 34.1% 差異接近顯著水準 ( $p = 0.08$ )。至羽化時，含抗豆象綠豆粉組死亡率為 61.7%，與含感蟲綠豆粉組及對照組之 56.7% 及 51.7% 相近 ( $p > 0.05$ )。

斜紋夜盜二齡幼蟲接入 3 種人工飼料後，各齡蟲之發育期如表三。含抗豆象綠豆粉組在二齡幼蟲至六齡幼蟲之發育期一般顯著較長，含感蟲綠豆粉組其次，而對照組最短。自幼蟲期二齡至六齡所需之發育日數仍以含抗豆象綠豆粉組最長，平均為  $35.2 \pm 1.2$  天，而

表一 一齡斜紋夜盜幼蟲在不同人工飼料中之死亡率 (%)

Table 1. Mortality of first instar larvae of *Spodoptera litura* feeding on three different artificial diets

Diet	N	Age (day)	
		1	2
Control	24	0	0
With 5.26% susceptible mungbean	24	100	100
With 5.26% resistant mungbean	24	100	100

表二 自二齡起餵食 3 種人工飼料之斜紋夜盜在不同蟲期之累積死亡率(%)

Table 2. Cumulative mortality of *Spodoptera litura* feeding on three different artificial diets from the second instar larvae

Diet	N	Larval instar					Pupa	Adult
		2nd	3rd	4th	5th	6th		
Control	3	0 <sup>a1</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	8.3 <sup>a</sup>	8.3 <sup>b</sup>	34.1 <sup>a</sup>	51.7 <sup>a</sup>
With 5.26% susceptible mungbean	3	12.5 <sup>a</sup>	12.5 <sup>a</sup>	12.5 <sup>a</sup>	16.7 <sup>a</sup>	30.0 <sup>a</sup>	38.3 <sup>a</sup>	56.7 <sup>a</sup>
With 5.26% resistant mungbean	1	18.3 <sup>a</sup>	23.3 <sup>a</sup>	23.3 <sup>a</sup>	23.3 <sup>a</sup>	37.5 <sup>a</sup>	56.7 <sup>a</sup>	61.7 <sup>a</sup>
<i>p</i> -value		> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05	< 0.05	> 0.05	> 0.05

1. Means within a column followed by different letters significantly differ ( $p < 0.05$ ) by the least significant difference test.

2. Data were transformed by  $\text{Sin}^{-1}\sqrt{X}$  prior to analysis.

表三 自二齡起餵食 3 種人工飼料之斜紋夜盜在不同蟲期之發育日數

Table 3. Development time (day) of larvae of *Spodoptera litura* feeding on three different artificial diets from the second instar

Diet	N	Larval instar					Total	Prepupa	Pupa
		2nd <sup>1</sup>	3rd	4th	5th	6th			
Control	24	3.2 ± 0.2 <sup>a2</sup>	4.2 ± 0.3 <sup>b</sup>	3.5 ± 0.3 <sup>a</sup>	3.3 ± 0.2 <sup>b</sup>	4.4 ± 0.5 <sup>b</sup>	18.2 ± 0.6 <sup>a</sup>	3.7 ± 0.4 <sup>a</sup>	12.9 ± 0.6 <sup>a</sup>
With 5.26% susceptible mungbean	24	6.9 ± 0.6 <sup>b</sup>	5.9 ± 0.3 <sup>a</sup>	4.6 ± 0.3 <sup>a</sup>	6.9 ± 0.5 <sup>a</sup>	7.8 ± 0.5 <sup>b</sup>	30.9 ± 1.1 <sup>b</sup>	4.3 ± 0.4 <sup>a</sup>	12.8 ± 0.7 <sup>a</sup>
With 5.26% resistant mungbean	24	9.6 ± 0.5 <sup>a</sup>	6.5 ± 0.5 <sup>a</sup>	4.3 ± 0.4 <sup>a</sup>	6.6 ± 0.5 <sup>a</sup>	8.6 ± 0.5 <sup>ab</sup>	35.2 ± 1.2 <sup>c</sup>	3.7 ± 0.4 <sup>a</sup>	13.3 ± 0.9 <sup>a</sup>
<i>p</i> -value		< 0.001	< 0.01	> 0.05	< 0.001	< 0.001	< 0.001	> 0.05	> 0.05

1. Mean ± S.E.

2. Means within a column followed by different letters significantly differ ( $p < 0.05$ ) by the least significant difference test.

對照組最低僅 18.2 ± 0.6 天。但是當進入前蛹期及蛹期時，對照組之發育日數與處理組已無

顯著差異。二齡至蛹期的總發育日數在抗豆象綠豆粉組為 52.6 天，感蟲綠豆粉組為 44.5

表四 自二齡起餵食三種不同人工飼料之斜紋夜盜之體重(克)

Table 4. Body weight (g) of larvae of *Spodoptera litura* feeding on three artificial diets from the second instar

Diet	N	Larval instar				Pupa
		3rd <sup>l</sup>	4th	5th	6th	
Control	24	0.107 ± 0.047 <sup>a2</sup>	0.146 ± 0.030 <sup>a</sup>	0.334 ± 0.036 <sup>a</sup>	0.741 ± 0.042 <sup>a</sup>	0.327 ± 0.020 <sup>a</sup>
With 5.26% susceptible mungbean	24	0.025 ± 0.003 <sup>b</sup>	0.067 ± 0.005 <sup>b</sup>	0.225 ± 0.035 <sup>b</sup>	0.559 ± 0.064 <sup>a</sup>	0.375 ± 0.021 <sup>a</sup>
With 5.26% resistant mungbean	24	0.029 ± 0.005 <sup>b</sup>	0.067 ± 0.007 <sup>b</sup>	0.193 ± 0.017 <sup>b</sup>	0.673 ± 0.053 <sup>a</sup>	0.361 ± 0.021 <sup>a</sup>
<i>p</i> -Value		< 0.05	< 0.01	< 0.001	> 0.05	> 0.05

1. Mean ± S.E.

2. Means within a column followed by different letters significantly differ ( $p < 0.05$ ) by the least significant difference test.

天，仍顯著較對照組 (35.2 天) 為長。

斜紋夜盜二齡幼蟲接入 3 種人工飼料後，各齡體重之變化情形如表四。三齡幼蟲之體重在對照組為 0.107 g，而 5.26% 感蟲綠豆粉及 5.26% 抗豆象綠豆粉組之三齡幼蟲體重分別為 0.025 及 0.029 g，均顯著低於對照組 ( $p < 0.05$ )。四、五齡幼蟲之趨勢相似，發育至六齡幼蟲對照組為 0.741 g，而其他 2 組則分別為 0.559 及 0.673 g，僅略低於對照組 ( $p > 0.05$ )。至化蛹時，3 種人工飼料組之平均體重已無顯著差異 ( $p > 0.05$ )。

### 三、四齡斜紋夜盜幼蟲在不同人工飼料中之存活及發育

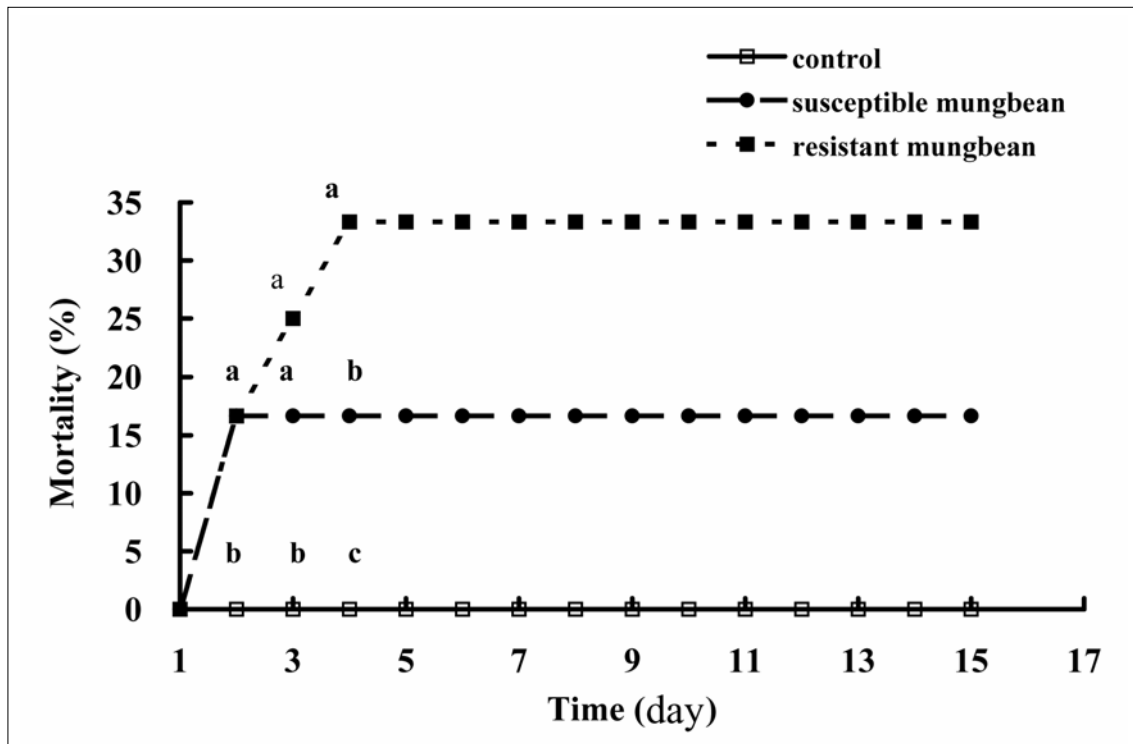
自四齡起餵食 5.26% 抗豆象綠豆粉 (VC6089A)、5.26% 感蟲綠豆粉 (VC1973A) 及不含綠豆粉人工飼料的斜紋夜盜，至化蛹時，死亡率分別為 33.3、16.7 和 0% (圖一)。因此以含抗豆象綠豆粉之人工飼料餵食老齡幼蟲仍可顯著提高斜紋夜盜死亡率。雖然三種處理之幼蟲體重均隨發育日數增加而增加，但含抗豆象綠豆粉人工飼料組斜紋夜盜幼蟲之體重顯著低於感蟲綠豆組，兩者又均顯著低於

對照組 (圖二； $F_{2,441} = 58.86, p < 0.001$ )。而由相對生長率 (g/g/day) 的比較亦可得到相似的結果，亦即含抗豆象綠豆粉人工飼料組之相對生長率顯著低於感蟲綠豆粉組及對照組 (圖三； $F_{2,142} = 19.41, p < 0.001$ )。

## 討 論

試驗結果發現抗豆象綠豆的確對斜紋夜盜幼蟲有顯著抗蟲作用，尤其對一齡幼蟲的影響最大，餵食含 5.26% 綠豆粉飼料後一天死亡率已達 100% (表一)。而在二齡及四齡的處理組中，抗豆象綠豆粉除有顯著的殺蟲效果外 (表一及圖一)，還有顯著抑制生長、發育的情形，不但在齡期、體重上顯著降低，生長速率和發育天數也都有顯著遲緩現象；兩處理組中都是對照組體重最重，發育最快；感蟲組次之，抗蟲組則各齡期體重最輕並發育最遲緩 (表三、四及圖二)。相對生長率的比較也支持抗豆象綠豆對斜紋夜盜幼蟲之生長有顯著抑制作用 (圖三)。

含綠豆粉人工飼料餵食試驗顯示，斜紋夜盜一齡幼蟲無法在含感蟲或抗豆象綠豆粉之



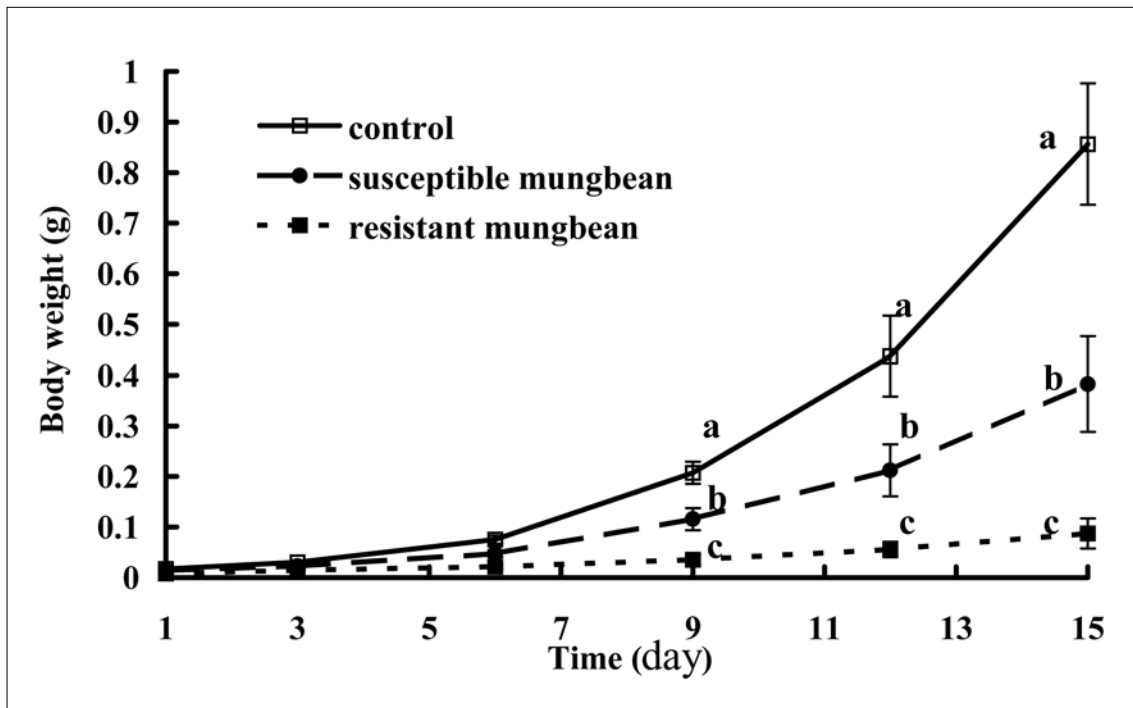
圖一 第四齡蟲之後的斜紋夜盜幼蟲以不同人工飼料飼育對其死亡率之影響

Fig. 1. Mortality of *Spodoptera litura* larvae feeding on different artificial diets from the fourth instar. (Means of daily mortality on the three diets followed by different letters significantly differ ( $p < 0.05$ ) by the least significant difference test.)

人工飼料上存活。四紋豆象的試驗也顯示一齡幼蟲在抗豆象綠豆 (VC6089A) 的死亡率達 70% 以上，惟感蟲綠豆上一齡幼蟲之死亡率低於 15% (Lin, 2004)。由於試驗中明確觀察到斜紋夜盜一齡幼蟲之取食行為，加上二齡及四齡之幼蟲試驗中，均有化蛹及羽化之現象，因此非偏好造成幼蟲餓死的可能性較低，而綠豆粉中含有抗蟲物質之可能性較高。根據以往的研究顯示，抗豆象綠豆 (VC6089A) 和感蟲綠豆 (VC1973A) 皆含有 VrD1，但是兩者在含量上有所不同 (Chen *et al.*, 2002b)；VC6089A 含有 0.012% 的 VrD1，是 VC1973A (0.0033%) 的 3.5 倍。而在二齡及四齡幼蟲的試驗中，也發現餵食含有抗豆象綠豆粉 (VC6089A) 的斜紋夜盜幼蟲，生長及發育最

差且死亡率也最高；而餵食含感蟲綠豆粉 (VC1973A) 的斜紋夜盜和對照組的比較，其發育也顯著較差，而死亡率也較高，由於抗蟲與感蟲綠豆為近等基因品系 (near isogenic line)，其遺傳差異僅 1%，而 VrD1 的含量差異則相當大，因此抗蟲與感蟲綠豆組斜紋夜盜之表現受到 VrD1 影響的可能性，值得進一步研究探討。如以純化之 VrD1 進行測試，效果相近，則可進一步支持此種假說。反之，如果綠豆粉之抗蟲效果遠大於 VrD1，則其他抗蟲物質存在之可能性應進一步加以釐清。

關於 VrD1 的抗蟲活性，已知會對豆象造成顯著的致死作用 (Chen *et al.*, 2002b)，並且造成幼蟲發育延遲 (Lin, 2004)；另外在四紋豆象的試驗中，藉由顯微鏡觀察更發現所有



圖二 第四齡蟲之後斜紋夜盜幼蟲以不同人工飼料飼育對其體重之影響

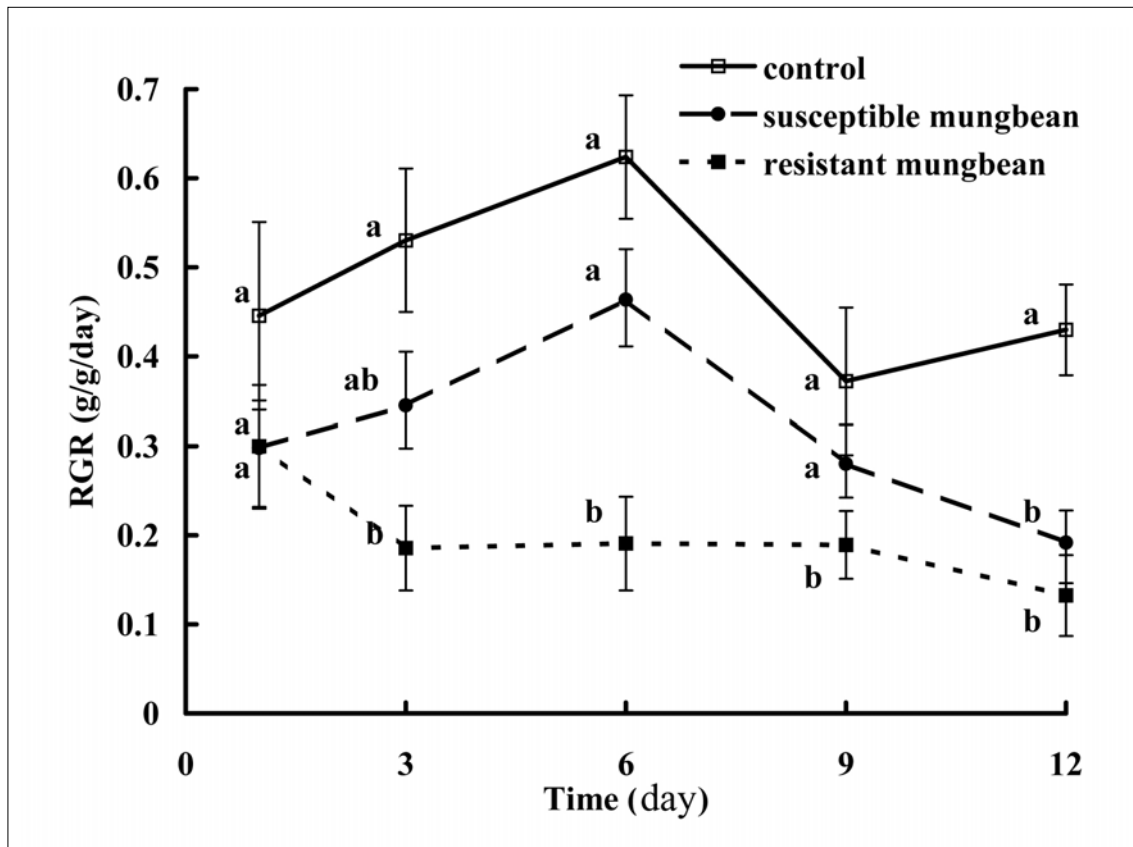
Fig. 2. Body weight (g) of *Spodoptera litura* larvae that feeding on different artificial diets from the fourth instar. (Means of daily mortality on the three diets followed by different letters significantly differ ( $p < 0.05$ ) by the least significant difference test.)

致死的幼蟲都在一齡蟲死亡，因此 VrD1 對豆象可能兼具毒性及抑制生長作用 (Lin, 2004)。而綠豆之抗蟲物質對斜紋夜盜幼蟲的作用可能也相似，在一齡時餵食含綠豆粉的人工飼料，其死亡率高達百分之百，顯示綠豆之抗蟲物質對斜紋夜盜的一齡幼蟲也有強烈的致死效應。然而自二齡開始餵食含綠豆粉的人工飼料時，部分的幼蟲可存活下來，且與豆象一樣，明顯地有發育遲緩的情形，發育天數顯著延長，且每個齡期的體重也顯著降低，但體重的差異在齡期越小時越顯著，在三齡時處理組幼蟲體重約為對照組的五分之一，四齡時約為二分之一的差距，到六齡時則差異已不顯著；因此含綠豆人工飼料對斜紋夜盜幼蟲之生長雖有阻礙，但幼蟲可經由延長發育期來加以

補償，而達到相同之體重。因此在應用上，施用時機的考量與殺蟲效果關係可能相當密切。例如：抗蟲物質的施用應以幼齡幼蟲為標的，對老齡幼蟲則由於致死效果不大而發育期延長，若與其他防治方法合併使用，如天敵的釋放，應有加成的效果。

基本上，由於 VrD1 尚不能大量純化，而斜紋夜盜幼蟲食量很大，所以本研究以綠豆粉餵食斜紋夜盜，進行抗蟲性檢測。結果顯示綠豆中含有對斜紋夜盜具抗蟲性之物質，且感性和抗性品系綠豆之抗蟲效果不同。此結果，可與 VrD1 之試驗比較，以確定 VrD1 對斜紋夜盜之抗性作用。此外，本研究顯示蟲齡愈大，綠豆粉之抗性作用愈小，將可提供 VrD1 試驗規劃之參考。而幼蟲在老齡時體重可逐漸恢





圖三 第四齡蟲之後的斜紋夜盜幼蟲以不同人工飼料飼育對其相對生長率之影響

Fig. 3. Relative growth rate (RGR) of *Spodoptera litura* larvae feeding on different artificial diets from the fourth instar. (Means of daily mortality on the three diets followed by different letters significantly differ ( $p < 0.05$ ) by the least significant difference test.)

復，因此，綠豆抗蟲物質對生長、發育之作用可能並非對幼蟲腸道造成永久性傷害，此結果可作為探討抗性機制之參考。最後，由綠豆對斜紋夜盜幼蟲之抗性作用特性，可提供以綠豆抗蟲物質防治此害蟲時策略決定的參考，如：發展轉殖作物或生物製劑的可行性及其優劣如何。

## 致 謝

本研究承國科會 NSC 91-2317-B-002-025 之經費補助，謹誌謝忱。又亞洲蔬菜研究

發展中心提供感蟲及抗蟲品系綠豆，特此致謝。

## 引用文獻

- Broadway, R. M., and S. S. Duffey. 1986. Plant proteinase inhibitors: mechanism of action and effect on the growth and digestive physiology of larval *Heliothiza* and *Spodoptera exiqua*. *J. Insect Physiol.* 32: 827-833.
- Chen, K. C., C. Y. Lin, M. C. Chung, C. C.

- Kuan, H. Y. Sung, S. C. S. Tsou, C. G. Kuo, C. S. Chen.** 2002b. Cloning and characterization of a cDNA encoding an antimicrobial protein from mungbean seeds. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 43: 251-259.
- Chen, K. C., C. Y. Lin, C. C. Kuan, H. Y. Sung, and C. S. Chen.** 2002a. A novel defensin encoded by a mungbean cDNA exhibits insecticidal activity against bruchid. *J. Agric. Food Chem.* 50: 7258-7263.
- Cheng, Y.** 1984. The chemical control and insecticide-resistance of lipidopterous vegetable. Proceedings of the Symposium on the Insect Control of Vegetables in Taiwan. Department of Agriculture and Forestry, Taiwan Provincial Government, ROC. pp. 100-110.
- Huesing, J. E., I. L. Murdock, and R. E. Shade.** 1991. Effect of wheat germisolectins on development of cowpea weevils. *Phytochemistry* 30: 785-788.
- Lin, C.** 2004. Characterization of the resistance to *Callosobruchus maculatus* (F.) in a mungbean variety VC6089A and its resistance-associated protein VrD1. Master's thesis, National Taiwan University, Taipei, Taiwan. 52 pp.
- SAS Institute** 1996. SAS/STAT software: changes and enhancements. SAS Institute, Cary, NC.
- Shih, C. J.** 1995. Determination of larval stadium and effect of temperature on the development of *Spodoptera litura*. *Mem. Coll. Agric. NTU* 35: 393-400 (in Chinese).
- Waldbauer, G. P.** 1968. The consumption and utilization of food by insects. *Adv. Insect Physiol.* 5: 229-288.
- Waterhouse, D. F.** 1997. The major invertebrate pests and weeds of agriculture and plantation forestry in the southern and western Pacific. *ACIAR Monogr.* 44: 99.

收件日期：2003年11月19日

接受日期：2004年09月20日

# Effect of Bruchid-resistant Mungbean on Survival and Development of *Spodoptera litura* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae)

Lu Ken, Huei-Yi Hsu and Shwn-Bin Horng\*

Institute of Entomology, National Taiwan University, 1 Roosevelt Road, Sec. 4, Taipei 106, Taiwan

## ABSTRACT

VrD1 (*Vigna radiata* Defensin 1) isolated from mungbean is the first plant defensin found to exhibit insecticidal effects. The aim of this study was to confirm the existence of a resistant substance in the mungbean and to characterize its resistance to *Spodoptera litura* F., an important pest in tropical areas. Hence the effect and mechanism of the resistant substance in the mungbean which is capable of being developed into a bioinsecticide or a transgenic crop could be evaluated. Artificial diets containing 5.26% of susceptible (VC1973A) or resistant mungbean (VC6089A) powders were provided to feed the first, second, and fourth instar larvae of *S. litura*, and the mortality, growth, and development of different stages of this insect were recorded. Larvae fed a diet without mungbean was served as a control group. Results showed that all the first instar larvae survived on the control diet, while diets containing susceptible or resistant mungbean powders caused 100% mortality to the first instar larvae. Feeding tests with the second and fourth instar larvae showed that the mortality of the immature stages significantly increased in the order of the control, susceptible, and resistant mungbean group. It was also observed that the diets containing the susceptible or resistant mungbean powder significantly extended the development period and decreased the fresh weight of the larvae and pupae. However, the second instar larva, which survived and consumed the diets with mungbean powder for a longer period, may have extended its development period in order to increase its body weight to a normal level in the final instar or pupal stages. These tests revealed that the resistant substance in the mungbean exhibits an insecticidal effect, and also has an inhibitory effect on the growth of *S. litura* larvae. Since the concentration of VrD1 in the diets with susceptible or resistant mungbeans was no more than 0.0063%, conducting bioassays with diets containing VrD1 is crucial for clarifying its resistance effect on *S. litura* in the future.

**Key words:** resistant mungbean, *Spodoptera litura*, resistant substance, resistance