



两种杀虫剂亚致死浓度对大豆蚜三种解毒酶和蛋白含量的影响

鲁冰瑜,李双宇,董爽,杨洪佳,陈雅茹,刘艳,王晓云,樊东

(东北农业大学农学院,黑龙江哈尔滨 150030)

摘要:为明确吡虫啉和印楝素对大豆蚜的亚致死效应,用带虫浸叶法处理大豆蚜成蚜,计算杀虫剂的毒力回归方程及 LC_{10} 、 LC_{20} 和 LC_{40} 浓度,并测定不同亚致死浓度处理不同时间 3 种主要解毒酶的活性及蛋白含量。结果表明:吡虫啉的毒力方程为 $y = 1.1784x + 10.7023$,印楝素的毒力方程为 $y = 1.6323x + 10.8815$ 。吡虫啉处理后,对多功能氧化酶(MFO)活性先抑制、后诱导,其中 LC_{20} 处理的诱导作用最强;对羧酸酯酶(CES)主要为抑制作用; LC_{10} 处理对谷胱甘肽 S-转移酶(GST)活性诱导作用最强。印楝素对 3 种酶主要为抑制作用,仅在 24 h 后对 MFO 和 CES 表现为诱导作用。吡虫啉处理 1 h 后,大豆蚜可溶性蛋白含量显著高于 CK。印楝素处理的蛋白含量在 1 h 时均显著高于 CK, LC_{20} 处理的蛋白含量最高,表现为随药剂浓度升高而先升后降。结果表明,大豆蚜代谢吡虫啉过程中,MFO 和 GST 可能发挥主要作用,CES 作用不明显;大豆蚜代谢印楝素时,MFO 和 CES 可能对低浓度(LC_{10})处理有一定作用,GST 的作用不大。2 种药剂处理的大豆蚜可溶性蛋白含量均在处理 1 h 时较高。

关键词:大豆蚜;吡虫啉;印楝素;解毒酶;亚致死效应;蛋白含量

Effects of Sublethal Concentration of Two Insecticides on Three Detoxification Enzymes and Protein Content of *Aphis glycines*

LU Bing-yu, LI Shuang-yu, DONG Shuang, YANG Hong-jia, CHEN Ya-ru, LIU Yan, WANG Xiao-yun, FAN Dong

(College of Agriculture, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: In order to make clear the sublethal effect of imidacloprid and azadirachtin on soybean aphids, the adult soybean aphids (*Aphis glycines*), were treated by leaf dipping method. The toxicity regression equations of the two insecticides and the concentration of LC_{10} , LC_{20} and LC_{40} were calculated. Soybean aphids were treated with the sublethal concentrations for 1, 12, 24 and 48 h. The activity of three main detoxifying enzymes and the soluble protein content were measured. The toxicity equation of imidacloprid was $y = 1.1784x + 10.7023$, and the equation of azadirachtin was $y = 1.6323x + 10.8815$. After treated by imidacloprid, the activity of MFO was firstly inhibited and then induced, among which LC_{20} treatment had the strongest induction effect. Imidacloprid was mainly inhibitory to CES. The induction effect of imidacloprid LC_{10} treatment on GST activity was the strongest. Azadirachtin mainly inhibited the activity of the three enzymes, and only induced the activity of MFO and CES at 24 h. After treated with imidacloprid for 1 h, the soluble protein content of soybean aphid was significantly higher than that of CK. After treated by azadirachtin, the protein content was significantly higher than that of CK at 1 h, and the protein content of LC_{20} treatment was still significantly higher than that of CK at 12 h, with the concentration effect of increasing protein content first and then decreasing with the increasing of insecticide concentration. The results indicated that MFO and GST played key roles during the metabolism of imidacloprid by soybean aphid, but CES had no significant effect. In azadirachtin metabolism, MFO and CES only played a certain role in low concentration (LC_{10}) treatment, GST was weak at all treatments. The soluble protein content of soybean aphid treated by the two insecticides was higher at 1 h.

Keywords: *Aphis glycines*; Imidacloprid; Azadirachtin; Detoxification enzyme; Sublethal effect; Protein content

大豆蚜(*Aphis glycines*)在中国大豆主要产区均有发生,在东北地区和内蒙古自治区危害较重^[1]。大豆蚜聚集于植株顶叶、嫩茎上刺吸危害,可使大豆减产 20% ~ 50%^[2],还可传播大豆花叶病等病害^[3]。吡虫啉为新烟碱类杀虫剂,具有高效、低毒

等优点^[4],是目前生产上防治大豆蚜的主要化学杀虫剂^[5]。但随吡虫啉应用的不断增加,害虫对其抗性逐渐增强^[6]。2018 年的抗药性监测数据显示,麦长管蚜对吡虫啉的抗性倍数较 2017 年增加了 1 ~ 2 倍^[7]。印楝素提取自植物印楝,可以通过多种方

收稿日期:2020-02-21

基金项目:现代农业产业技术体系建设专项(CARS-04);国家重点研发计划(2018YFD0201000)。

第一作者简介:鲁冰瑜(1993-),女,硕士,主要从事农业昆虫与害虫防治研究。E-mail:bylu_123@163.com。

通讯作者:樊东(1969-),男,博士,教授,博导,主要从事农业昆虫与害虫防治研究。E-mail:dnfd@163.com。

式杀死害虫,且害虫不易产生抗药性,在中国主要用于防治小菜蛾、菜青虫和茶毛虫等^[8]。用印楝素对小菜蛾汰选 42 代,小菜蛾的抗性倍数不超过 1.7 倍^[9]。目前尚无田间害虫种群对印楝素产生明显抗性的报道。

杀虫剂在使用时能够直接杀死部分害虫,一段时间后则降解至亚致死浓度^[10]。亚致死浓度的杀虫剂会为害虫提供长期选择压力,导致其代谢有毒物质的能力增强^[11]。涉及昆虫代谢抗性的解毒酶主要有由细胞色素 P450 介导的多功能氧化酶(multifunctional oxidase, MFO)、谷胱甘肽 S-转移酶(glutathione S-transferases, GST)、水解酶类^[12],这些解毒酶与昆虫代谢拟除虫菊酯类^[13]、有机磷类^[14]等杀虫剂有密切关系。有研究表明 MFO、羧酸酯酶(carboxylesterase, CES)和 GST 在桃蚜^[15]和棉蚜^[16]对吡虫啉的抗性代谢中起重要作用,中华稻蝗血细胞中 MFO 可能起到一定的代谢印楝素的作用^[17]。蛋白含量与昆虫对杀虫剂的抗性有一定关系,蛋白质能够维系昆虫体内结构和功能,还可提高昆虫对杀虫剂等不良因素的耐力。有研究表明,异色瓢虫经抗性选育后蛋白含量有所提高^[18]。

目前关于吡虫啉和印楝素对大豆蚜解毒酶和可溶性蛋白含量影响的研究鲜有报道,本研究测定了吡虫啉和印楝素 LC₁₀、LC₂₀ 和 LC₄₀ 亚致死浓度处理大豆蚜 1, 12, 24 和 48 h 后大豆蚜 MFO、GST 和 CES 的活性和可溶性蛋白含量,旨在为大豆蚜在 2 种杀虫剂亚致死浓度下的生理生化变化和抗性研究提供一定理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试虫源 试验所用大豆蚜采自田间,于盆栽上连续饲养多代。大豆品种为黑农 51,置于恒温培养箱中(温度 25 ± 1 ℃,光周期光照/黑暗 = 14 h/10 h,相对湿度 70%)培养,期间不接触任何农药。

1.1.2 药剂及试剂 吡虫啉[艾美乐,70%水分散粒剂,拜耳作物科学(中国)有限公司];印楝素(印恋,0.3%印楝素乳油,成都绿金生物科技有限责任公司);昆虫羧酸酯酶(CES)、谷胱甘肽-S-转移酶(GST)、多功能氧化酶(MFO)酶联免疫分析试剂盒(江苏酶标生物科技有限公司);Bradford 法蛋白浓度测定试剂盒(宝日医生物技术有限公司)。

1.1.3 主要仪器 多功能酶标仪(INFINITE-200 PRO,瑞士 TECAN 公司);高速冷冻离心机(UNIVERSAL16R,美国 Hettich 公司);电热恒温水浴锅(HWS-24,上海一恒科学仪器有限公司)。

1.2 试验设计

1.2.1 毒力测定与亚致死浓度测定试验 采用带虫浸叶法,将吡虫啉稀释为 0.41, 1.23, 3.70, 11.11 和 33.33 mg · L⁻¹;印楝素稀释为 125, 250, 500, 1 000 和 2 000 mg · L⁻¹,以清水作对照。将带有蚜虫的叶片在药液中浸泡 5 s 后取出,置于装有琼脂培养基的培养皿中培养,用吸水纸吸干多余药液。每个处理 60 头大豆蚜成蚜,3 次重复。

1.2.2 解毒酶活力测定试验 参照 1.2.1 中的处理方法,用 LC₁₀、LC₂₀ 和 LC₄₀ 浓度吡虫啉和印楝素处理大豆蚜成蚜,分别在处理后 1, 12, 24 和 48 h 取样,冻存于液氮中,用于制备酶源。取 10 头大豆蚜置于 1.5 mL EP 管中,加入 0.2 mL 浓度为 0.1 mol · L⁻¹ 的 PBS 缓冲液(pH7.4),冰浴研磨后,4 ℃, 12 000 r · min⁻¹ 离心 10 min,取上清液作为酶源。使用试剂盒测定不同处理的酶活力并比较分析。

1.2.3 可溶性蛋白含量测定试验 取 1.2.2 中离心后的酶源上清液,使用试剂盒测定不同处理的蛋白浓度。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 毒力测定与亚致死浓度 统计 48 h 后大豆蚜的死亡率,绘制浓度-死亡率曲线并计算毒力回归方程及 LC₁₀、LC₂₀ 和 LC₄₀。

1.3.2 解毒酶活力 酶标包被板设置空白孔,标准孔和待测样品孔。将 10 μL 待测样品与 40 μL 样品稀释液在酶标包被板样品孔中以 1:4 混合,最终稀释倍数为 5 倍。标准孔中加入 50 μL 标准品,空白孔中不加样品。用封板膜封板后至 37 ℃温育 30 min,用洗涤液洗涤 5 次。除空白孔外每孔加入酶标试剂 50 μL,再次温育、洗涤。加入显色剂,37 ℃避光显色 10 min 后加入终止液。用酶标分析仪在 450 nm 波长下测量相应酶液 OD 值,以空白孔调零。以标准物的浓度为横坐标,对应的 OD 值为纵坐标绘出标准曲线。将样品的 OD 值代入标准曲线方程式,计算出样品浓度(U · L⁻¹),再乘以稀释倍数,即为样品实际浓度(U · L⁻¹)。酶活力(U · mg⁻¹) = 样品实际浓度(U · L⁻¹)/样品蛋白浓度(μg · mL⁻¹)。

MFO 活力:取空白和酶活力分别为 15, 30, 60, 120 和 240 U · L⁻¹ 的标准品,测定其 OD 值,根据标准曲线方程 y = 0.004 0x - 0.036 1 计算 MFO 活力。

CES 活力:取空白和酶活力分别为 6.25, 12.50, 25.00, 50.00 和 100.00 U · L⁻¹ 的标准品,测定其 OD 值,根据标准曲线方程 y = 0.008 9x - 0.105 1 计算 CES 活力。

GST 活力:取空白和酶活力分别为 2, 4, 8, 16 和 32 U · L⁻¹ 的标准品,测定其 OD 值,根据标准曲线方

程: $y=0.0228x-0.0273$ 计算 GST 活力。

1.3.3 蛋白质含量 采用 Bradford 考马斯亮蓝法测定蛋白浓度^[19],以 BSA 为标准蛋白。将 BSA 标准品按使用说明稀释成 0,25,125,250,500,750 和 1 000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,取 4 μL 稀释后的标准品和 1.2.2 中制备好的样品加入到微孔板中,每个浓度2次重复。每孔中加入 200 μL 复温的染色液,混匀后在 25 $^{\circ}\text{C}$ 下反应 5 min。测定波长 595 nm 处吸光值。以吸光值为纵坐标,标准品浓度为横坐标绘制标准曲线,根据标准曲线方程 $y=0.0007x+0.0203$ 计算样品的蛋白浓度。

1.4 数据分析

利用 DPS 7.05 和 Excel 2016 进行数据处理。

表 1 两种杀虫剂对大豆蚜毒力方程和亚致死浓度

Table 1 Toxicity equation and sublethal concentrations of two insecticides to <i>Aphis glycines</i> (mg·L ⁻¹)						
杀虫剂 Pesticide	毒力回归方程 Toxicity regression equation	相关系数 Correlation coefficient	LC ₁₀	LC ₂₀	LC ₄₀	LC ₅₀
吡虫啉 Imidacloprid	$y=1.1784x+10.7023$	0.8039	1.19 (0.63~1.83)	2.80 (1.82~4.11)	8.83 (5.90~15.33)	14.49 (9.16~28.91)
印楝素 Azadirachtin	$y=1.6323x+10.8815$	0.8115	40.90 (10.22~82.87)	76.07 (25.89~133.70)	174.40 (87.53~259.10)	249.30 (145.20~351.00)

2.2 两种杀虫剂亚致死浓度对大豆蚜 MFO 活性的影响

2.2.1 吡虫啉对大豆蚜 MFO 活性的影响 吡虫啉处理大豆蚜后,MFO 活性呈先受抑制后受诱导的趋势。处理 1 h 时抑制作用最强,吡虫啉各浓度处理的 MFO 活性均显著低于 CK,其中 LC₁₀ 和 LC₂₀ 处理显著低于同浓度其它时间处理;处理 12 h 后 LC₂₀ 处理诱导作用较强,酶活性显著高于 CK 和其它处理;处理 24 h 时,LC₁₀ 和 LC₂₀ 处理诱导作用显著高于 CK;处理 48 h 时,各处理间酶活性无显著差异(图 1)。

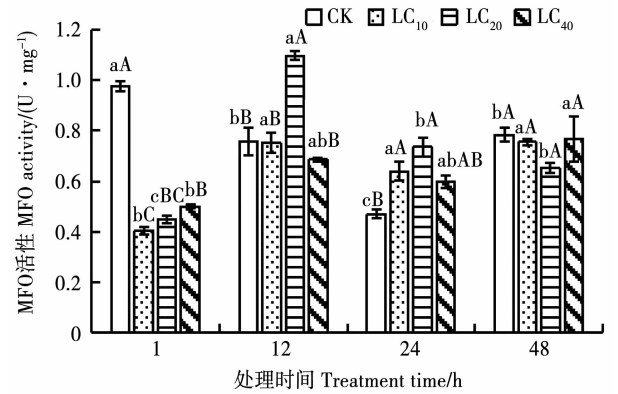
2.2.2 印楝素对大豆蚜 MFO 活性的影响 印楝素处理大豆蚜后,MFO 活性先受到抑制,然后逐渐恢复,印楝素对 MFO 的诱导作用随浓度增大而减弱。1 h 时各浓度药剂处理酶活性均显著低于 CK,LC₁₀、LC₂₀ 和 LC₄₀ 酶活性分别是 CK 的 0.59,0.54 和 0.57 倍;处理后 12 h 印楝素各浓度处理 MFO 活性均显著低于 CK,但相比 1 h 处理 MFO 活性逐渐恢复;24 和 48 h 酶活性大小表现为 LC₁₀ > LC₂₀ > LC₄₀,LC₁₀ 处理酶活性显著高于 CK。低浓度印楝素处理的诱导作用较强,在较低亚致死浓度印楝素处理时 MFO 可能起到一定的解毒代谢作用(图 2)。

利用 DPS 7.05 计算毒力回归方程和亚致死浓度,并用 Duncan's 新复极差法进行不同浓度和时间处理下大豆蚜解毒酶活性和蛋白含量的差异显著性分析($P<0.05$),用 Excel 2016 软件绘制柱形图。

2 结果与分析

2.1 两种杀虫剂对大豆蚜的亚致死浓度

由表 1 可知,吡虫啉的 LC₁₀、LC₂₀ 和 LC₄₀ 分别为 1.19,2.80 和 8.83 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,印楝素的 LC₁₀、LC₂₀ 和 LC₄₀ 分别为 40.90,76.07 和 174.40 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。比较 2 种杀虫剂的 LC₅₀,吡虫啉的毒力倍数是印楝素的 17.20 倍,远高于印楝素。



不同小写字母表示相同浓度不同时间处理间差异显著($P<0.05$),不同大写字母表示不同浓度相同时间处理间差异显著($P<0.05$)。下同。

Different lowercase indicate significant difference at different times within the same concentration treatment($P<0.05$). Different capital indicate significant difference between different concentration treatments at the same time($P<0.05$). The same below.

图 1 吡虫啉亚致死浓度对大豆蚜 MFO 活性的影响
Fig. 1 Effects of sublethal concentrations of imidacloprid on MFO activity in *Aphis glycines*

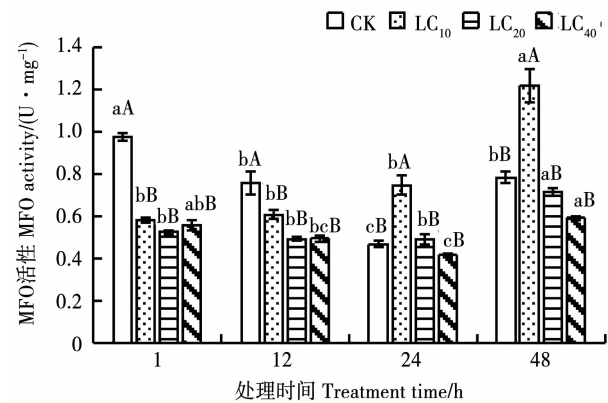


图2 印楝素亚致死浓度对大豆蚜 MFO 活性的影响

Fig. 2 Effects of sublethal concentrations of azadirachtin on MFO activity in *Aphis glycines*

2.3 两种杀虫剂亚致死浓度对大豆蚜 CES 活性的影响

2.3.1 吡虫啉对大豆蚜 CES 活性的影响 吡虫啉处理大豆蚜后,CES 活性先受到抑制,而后抑制作用减弱,1 h 时抑制作用最强,药剂处理的 CES 活性显著低于 CK,表现为显著抑制作用;处理 12 h 时,药剂处理的 CES 活性有所增强,与 CK 的差异小于处理 1 h 时的差异;24 h 时各药剂处理的诱导效应与 CK 无显著差异;48 h 时 LC₁₀ 处理的酶活性又显著低于 CK。3 个药剂浓度处理在 12,24 和 48 h 时诱导酶活性均为 LC₂₀ > LC₄₀ > LC₁₀,吡虫啉对 CES 抑制作用随浓度增加而先降低后增强(图 3)。

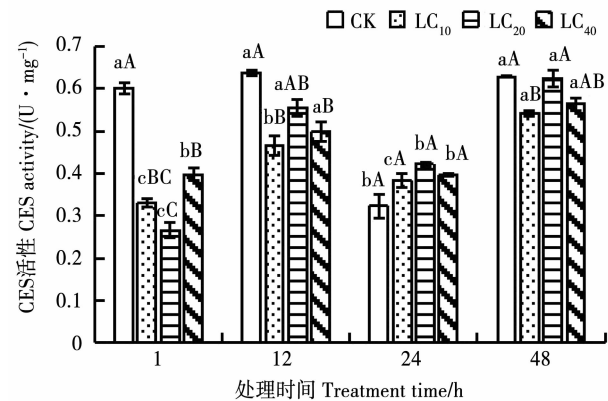


图3 吡虫啉亚致死浓度对大豆蚜 CES 活性的影响

Fig. 3 Effects of sublethal concentrations of imidacloprid on CES activity in *Aphis glycines*

2.3.2 印楝素对大豆蚜 CES 活性的影响 处理大豆蚜 1 h 时,LC₄₀ 处理酶活性最低,显著低于 LC₂₀ 处理,印楝素处理酶活性均显著低于 CK。12 h 时,药剂处理仍显著低于 CK,依旧表现为对 CES 的抑制作用。24 h 时,LC₁₀ 和 LC₂₀ 药剂处理表现为诱导效应,酶活性具体表现为 LC₁₀ > LC₂₀ > LC₄₀,LC₁₀ 处理显著高于 CK 和 LC₄₀ 处理。48 h 时 LC₁₀ 处理表现为诱导作用,CES 活性显著高于其它处理。印楝素对 CES 的作用为先抑制、后诱导,低浓度诱导作用较强(图 4)。

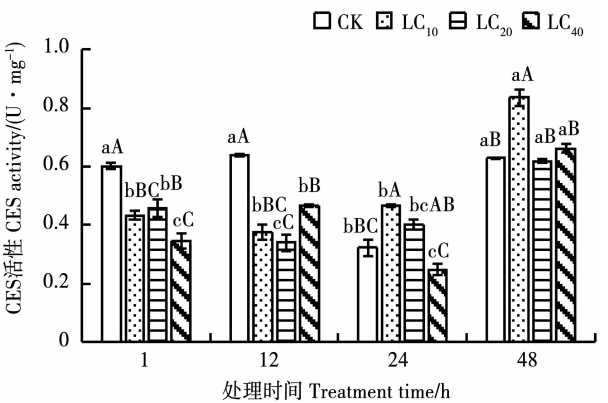


图4 印楝素亚致死浓度对大豆蚜 CES 活性的影响

Fig. 4 Effects of sublethal concentrations of azadirachtin on CES activity in *Aphis glycines*

2.4 两种杀虫剂亚致死浓度对大豆蚜 GST 活性的影响

2.4.1 吡虫啉对大豆蚜 GST 活性的影响 吡虫啉对 GST 有一定诱导作用,诱导作用随浓度升高而减弱,LC₁₀ 处理对 GST 诱导作用较强。吡虫啉处理 1 h 时,LC₁₀ 和 LC₄₀ 处理的诱导作用较强,显著高于 CK 和 LC₂₀ 处理。12 h 时 LC₁₀ 和 LC₂₀ 处理与 CK 差异不显著,LC₄₀ 处理诱导效应显著低于 LC₁₀ 处理。24 h 时,药剂处理 GST 活性为 LC₂₀ > LC₁₀ > LC₄₀,LC₂₀ 处理酶活性显著高于 CK。48 h 时,不同处理酶活性表现为 LC₁₀ > LC₂₀ > LC₄₀,LC₁₀ 处理酶活性显著高于其它处理(图 5)。

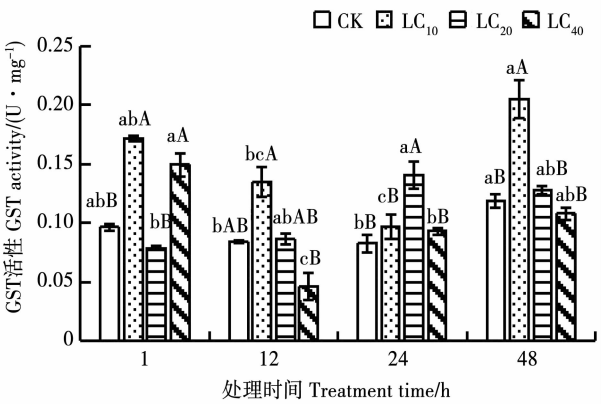


图5 吡虫啉亚致死浓度对大豆蚜 GST 活性的影响

Fig. 5 Effects of sublethal concentrations of imidacloprid on GST activity in *Aphis glycines*

2.4.2 印楝素对大豆蚜 GST 活性的影响 印楝素 LC₁₀ 和 LC₂₀ 处理对 GST 的活性诱导在 4 个时间点均无显著影响。LC₂₀ 处理在 24 和 48 h 时诱导酶活性较低,说明 LC₂₀ 处理对 GST 活性有一定抑制作用;LC₄₀ 不同时间处理间诱导效应无显著差异,均低于 CK,且 12 和 48 h 时与 CK 差异显著,表现出较强的抑制作用。印楝素各处理不同时间的诱导效应均表现为 LC₁₀ > LC₂₀ > LC₄₀。说明印楝素对 GST 主要为抑制作用,且随浓度升高抑制作用增强(图 6)。

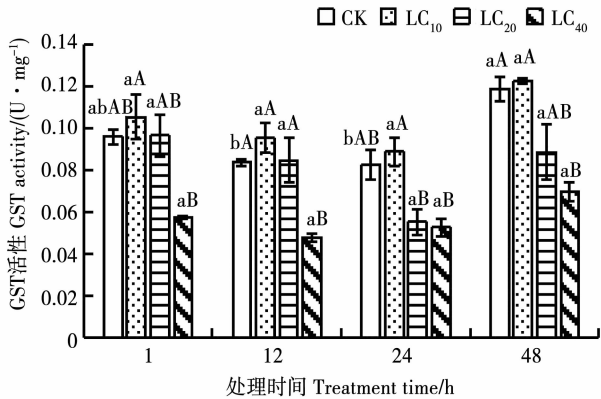


图6 印楝素亚致死浓度对大豆蚜 GST 活性的影响
Fig. 6 Effects of sublethal concentrations of azadirachtin on GST activity in *Aphis glycines*

2.5 两种杀虫剂亚致死浓度对大豆蚜可溶性蛋白含量的影响

2.5.1 吡虫啉对大豆蚜可溶性蛋白含量的影响

吡虫啉处理大豆蚜后,大豆蚜可溶性蛋白含量的变化表现为早期较高,后恢复至 CK 水平,蛋白含量与吡虫啉浓度关系不明显。吡虫啉处理 1 h,药剂处理间的可溶性蛋白含量差异不显著,LC₁₀ 和 LC₂₀ 处理显著高于 CK。处理 12 和 24 h,药剂处理与 CK 可溶性蛋白含量无显著差异。处理 48 h,LC₄₀ 处理可溶性蛋白含量显著高于其它处理,LC₁₀ 和 LC₂₀ 处理与 CK 差异不显著(图 7)。

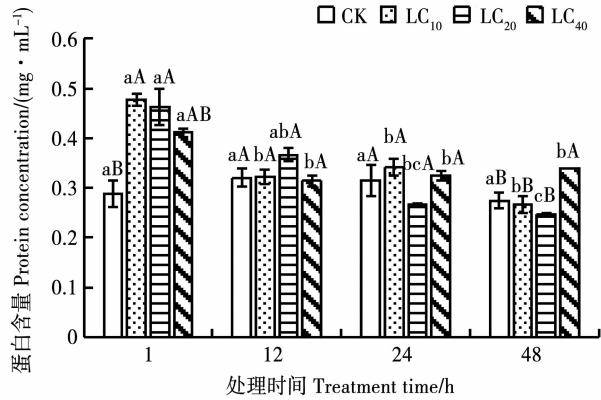


图7 吡虫啉亚致死浓度对大豆蚜可溶性蛋白含量的影响
Fig. 7 Effects of sublethal concentrations of imidacloprid on soluble protein content in *Aphis glycines*

2.5.2 印楝素对大豆蚜可溶性蛋白含量的影响

印楝素处理后,大豆蚜的可溶性蛋白含量在药剂处理后短时间内较高,后恢复至 CK 水平,蛋白含量随印楝素浓度升高而先升后降。处理 1 h,不同浓度印楝素处理的可溶性蛋白含量均显著高于 CK。处理 12 h,印楝素处理的蛋白含量均高于 CK,其中 LC₂₀ 处理与 CK 差异显著。处理 24 h,药剂处理和 CK 的蛋白含量差异不显著,LC₂₀ 处理蛋白含量最高。处理 48 h,药剂处理和 CK 的蛋白含量相近,处理间差异不显著(图 8)。

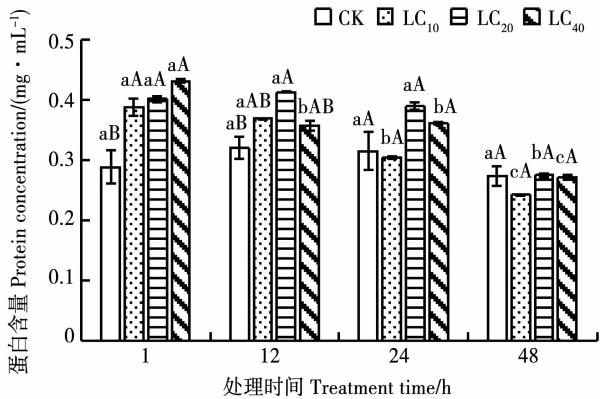


图8 印楝素亚致死浓度对大豆蚜可溶性蛋白含量的影响
Fig. 8 Effects of sublethal concentrations of azadirachtin on soluble protein content in *Aphis glycines*

3 讨论

吡虫啉在昆虫中代谢解毒反应主要有羟基化、去饱和化、去烷基及硝基还原等^[20]。Elzaki 等^[21]的研究表明,灰飞虱体内 MFO 含量的增加与其对吡虫啉的抗性有关;尚素琴等^[22]的研究表明,在苹果蠹蛾代谢吡虫啉的过程中 GST 活性显著升高,与本研究 MFO、GST 活性显著增强的结果相似,MFO 和 GST 可能在大豆蚜代谢吡虫啉时发挥作用。郭天凤等^[23]的研究表明,棉蚜抗吡虫啉品系体内的 CES 活性显著高于敏感品系,而 GST 的活性与敏感品系差异不显著,与本研究吡虫啉对 CES 诱导作用较弱,对 GST 诱导作用较强的结论不同,可能是由于不同昆虫对药剂的代谢有差异,且杀虫剂对经多代淘汰的抗性种群与敏感种群的影响不同。LC₁₀ 和 LC₂₀ 浓度吡虫啉对解毒酶诱导作用较强,表明大豆蚜长期处于吡虫啉亚致死浓度的环境中,可能会导致其解毒酶活性升高,抗性增加。很多对吡虫啉产生抗性的害虫对其它新烟碱类药剂也表现出抗性^[24],因此在生产中防治大豆蚜时,应注意将吡虫啉与其它杀虫机理不同的药剂轮换使用。

有印楝素对解毒酶影响的研究发现,印楝素对菜青虫中肠 CES^[25],小菜蛾的 MFO 酶系^[26],黑腹果蝇的 GST 活性均有抑制作用^[27]。本研究结果表明,MFO 和 CES 在印楝素较低亚致死浓度处理一段时间后可能发挥一定代谢作用,在较高浓度处理中主要为抑制作用。印楝素对 GST 活性主要为抑制作用。印楝素对解毒酶抑制作用的浓度效应较明显,可能与杀虫作用有关。印楝素对解毒酶的抑制作用较强这点与前人研究结果相似,证明了其在虫体内代谢复杂、不易产生抗药性的特点。

有研究表明,致死中浓度吡虫啉处理大豆蚜可使成虫体内的可溶性蛋白含量显著升高^[28]。本研

究结果表明,吡虫啉和印楝素处理后,大豆蚜可溶性蛋白含量均为短时间内较高,后恢复至 CK 水平,与前人的结论相似,表明大豆蚜在亚致死浓度杀虫剂处理时可能通过提高体内可溶性蛋白含量提高抗药性,但蛋白含量升高的时间有一定差异,可能与药剂浓度和处理方法不同有关。大豆蚜体内可溶性蛋白含量与杀虫剂杀虫机理和昆虫代谢抗性的关系有待进一步研究。

不同杀虫剂处理对酶活性抑制或诱导作用最强的时间点不同,可能与不同杀虫剂作用机理不同有关。与化学杀虫剂吡虫啉相比,印楝素对昆虫主要解毒酶的抑制作用整体较强,更不易产生抗药性。吡虫啉与印楝素的解毒代谢机理有较大差异,可在考虑成本的情况下将印楝素与吡虫啉或其它化学杀虫剂轮换使用,若确定不影响药效,也可与化学杀虫剂混用,以提高药效,延缓抗药性的产生。

4 结 论

吡虫啉对大豆蚜毒力方程为 $y = 1.178\ 4x + 10.702\ 3$, LC_{50} 为 $14.49\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,印楝素的毒力方程为 $y = 1.632\ 3x + 10.881\ 5$, LC_{50} 为 $249.3\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。吡虫啉处理后,MFO 活性变化为先抑制后诱导,24 h 酶活性较高, LC_{20} 处理诱导作用最强;对 CES 主要为抑制作用,1 和 12 h 抑制作用较强;对 GST 有诱导作用, LC_{10} 处理诱导作用较强。MFO 和 CES 活性随吡虫啉浓度升高而先增强后减弱,GST 活性随浓度升高而减弱。印楝素处理中 MFO 主要受抑制作用,仅 LC_{10} 处理在 24 和 48 h 受到诱导作用;1 和 12 h 对 CES 有抑制作用,24 和 48 h 在 LC_{10} 处理中为诱导作用, LC_{20} 和 LC_{40} 处理中无明显作用;对 GST 为抑制作用,且随印楝素浓度升高抑制作用增强。亚致死浓度吡虫啉和印楝素处理大豆蚜后,可溶性蛋白含量均在处理后短时间内较高。印楝素处理对蛋白含量的诱导作用有随药剂浓度升高而先升后降的浓度效应。

参考文献

[1] 王承纶,相连英,张广学,等. 大豆蚜 *Aphis glycines* Matsumura 的研究[J]. 昆虫学报,1962(1): 31-44. (Wang C L, Xiang L Y, Zhang G X, et al. Study on *Aphis glycinines* Matsumura[J]. Acta Entomologica Sinica, 1962 (1): 31-44.)

[2] 司兆胜,陈继光,宋显东,等. 黑龙江省大豆蚜发生种群动态研究[J]. 大豆科学,2017,36(4): 614-619. (Si Z S, Chen J G, Song X D, et al. Study on the population dynamics of soybean aphid in Heilongjiang province[J]. Soybean Science, 2017, 36 (4): 614-619.)

[3] 郭井泉,张明厚. 大豆花叶病毒(SMV)主要介体及其传毒效

率研究[J]. 大豆科学, 1989,8(1): 55-63. (Guo J Q, Zhang M H. Study on the important vectors of soybean mosaic virus (SMV) and their transmission efficiencies[J]. Soybean Science, 1989,8(1): 55-63.)

[4] Tomizawa M, Casida J E. Selective toxicity of neonicotinoids attributable to specificity of insect and mammalian nicotinic receptors[J]. Annual Review of Entomology, 2003, 48(1): 339-364.

[5] 张傲楠,韩岚岚,赵奎军,等. 大豆蚜对不同浓度吡虫啉药剂胁迫的适应性[J]. 应用昆虫学报,2020,57(3): 676-681. (Zhang A N, Han L L, Zhao K J, et al. Effects of semilethal and sublethal doses of imidacloprid on *Aphis glycines* (Hemiptera: Aphididae)[J]. Chinese Journal of Applied Entomology, 2020, 57(3): 676-681.)

[6] 张彦英,张弘. 吡虫啉抗性产生的可能与治理[J]. 农药, 1999, 38(4): 22-23. (Zhang Y Y, Zhang H. Resistance to imidacloprid, its occurrence possibilities and management[J]. Agrochemicals, 1999, 38(4): 22-23.)

[7] 张帅. 2018 年全国农业有害生物抗性监测结果及科学用药建议[J]. 中国植保导刊, 2019, 39(3): 63-67,72. (Zhang S. Monitoring results and scientific drug use recommendations of agricultural pests resistance in China in 2018[J]. China Plant Protection, 2019, 39(3): 63-67,72.)

[8] 徐汉虹,赖多,张志祥. 植物源农药印楝素的研究与应用[J]. 华南农业大学学报, 2017, 38(4): 1-11,133. (Xu H H, Lai D, Zhang Z X. Research and application of botanical pesticide azadirachtin[J]. Journal of South China Agricultural University, 2017, 38(4): 1-11,133.)

[9] 何成兴,尹可锁,郭志祥,等. 印楝素对小菜蛾敏感种群和抗性种群的拒食活性[J]. 西南农业学报,2006(5): 912-915. (He C X, Yi K S, Guo Z X, et al. Anti-feeding activity of azadirachtin to susceptible and resistant population of *Plutella xylostella*[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2006 (5): 912-915.)

[10] 王芹芹,崔丽,王奇渊,等. 茚虫威亚致死浓度对茚虫威敏感性降低的棉铃虫生物学参数及解毒酶活性的影响[J]. 昆虫学报, 2019, 62(8): 960-969. (Wang Q Q, Cui L, Wang Q Y, et al. Effects of sublethal concentration of indoxacarb on the biological parameters and detoxifying enzyme activities in the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) with reduced susceptibility to indoxacarb[J]. Acta Entomologica Sinica, 2019, 62(8): 960-969.)

[11] 袁家瑜,杨慧,何恒果. 噻虫嗪亚致死剂量对月季长管蚜解毒酶活性的影响[J]. 农药,2020,59(3): 184-187. (Yuan J Y, Yang H, He H G. Effects of sublethal doses of thiamethoxazide on detoxifying enzymes of *Macrosiphu rosuomm* Zhang [J]. Agrochemicals, 2020,59(3): 184-187.)

[12] 张红英,赤国彤,张金林. 昆虫解毒酶系与抗药性研究进展[J]. 河北农业大学学报,2002(S1): 193-195. (Zhang H Y, Chi G T, Zhang J L. The progress of detoxification enzyme systems and resistance of insecticide[J]. Journal of Agricultural University of Hebei,2002(S1): 193-195.)

[13] 陈澄宇,史雪岩,高希武. 昆虫对拟除虫菊酯类杀虫剂的代谢抗性机制研究进展[J]. 农药学报, 2016, 18(5): 545-555. (Chen C Y, Shi X Y, Gao X W. Mechanism of insect metabolic

resistance to pyrethroid insecticides [J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2016, 18(5): 545-555.)

[14] 汤秋玲,马康生,高希武. 蔬菜蚜虫抗药性现状及抗性治理策略[J]. 植物保护,2016,42(6): 11-20. (Tang Q L, Ma K S, Gao X W. Current status and management strategies of insecticide resistance in aphids on the vegetable crops [J]. Plant Protection, 2016, 42(6): 11-20.)

[15] Choi B R, Lee S W, Yoo J K. Resistant mechanism of green peachaphid, *Myzus persicae* (Homoptera; Aphididea), to imidacloprid [J]. Korean Journal of Applied Entomology, 2004, 3: 265-271.

[16] 潘文亮,党志红,高占林. 棉蚜抗吡虫啉品系和敏感品系主要解毒酶活性比较[J]. 昆虫学报,2003(6): 793-796. (Pan W L, Dang Z H, Gao Z L. Comparison of activities of detoxic enzymes in the imidacloprid-resistant and susceptible strains of the cotton aphid, *Aphis gossypii* [J]. Acta Entomologica Sinica, 2003 (6): 793-796.)

[17] 王小莉,张雪娟,张欣,等. 印楝素对中华稻蝗血细胞的毒性影响[J]. 应用昆虫学报, 2019, 56(3): 546-556. (Wang X L, Zhang X J, Zhang X, et al. Toxicity of azadirachtin on blood cells of *Oxya chinensis* [J]. Chinese Journal of Applied Entomology, 2019, 56(3): 546-556.)

[18] 袁瑞,杨洪. 异色瓢虫对3种杀虫剂抗性选育过程中酯酶活性和蛋白含量的动态变化[J]. 贵州科学, 2012, 30(4): 29-33. (Yuan R, Yang H. Dynamic changes of esterase activity and protein content of *Harmonia axyridis* in the breeding process of resistance to three insecticides [J]. Guizhou Science, 2012, 30 (4): 29-33.)

[19] Bradford W W. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72 (1): 248-254.

[20] 郑宇,姚凤鸾,丁雪玲,等. 烟粉虱对吡虫啉的室内抗性发展动态及其生化机制[J]. 江西农业学报, 2018, 30(1): 70-73. (Zheng Y, Yao F L, Ding X L, et al. Developmental trend of resistance of *Bemisia tabaci* to imidacloprid in laboratory and its biochemical mechanism [J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 2018, 30 (1): 70-73.)

[21] Elzaki M E A, Zhang W F, Feng A, et al. Constitutive overexpression of cytochrome P450 associated with imidacloprid resistance in *Laodelphax striatellus* (Fallén) [J]. Pest Management Science, 2016, 72(5): 1051-1058.

[22] 尚素琴,柳永花,刘龙,等. 亚致死质量浓度吡虫啉对苹果蠹蛾解毒酶的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2017, 45(3): 131-137. (Shang S Q, Liu Y H, Liu L, et al. Effect of sublethal concentrations of imidacloprid on activities of detoxifying enzymes in *Cydia pomonella* [J]. Journal of Northwest A and F University (Natural Science Edition), 2017, 45 (3): 131-137.)

[23] 郭天凤,史雪岩,高希武,等. 棉蚜吡虫啉、啉虫脒不同品系解毒酶活性测定和增效剂作用的研究[J]. 环境昆虫学报, 2014, 36(3): 388-394. (Guo T F, Shi X Y, Gao X W, et al. Study on the activity of the detoxification enzymes and Synergist synergism of cotton aphid (*Aphis gossypii*) on imidacloprid, acetamiprid different strains [J]. Journal of Environmental Entomology, 2014, 36(3): 388-394.)

[24] Liu Z W, Han Z J, Wang Y C, et al. Selection for imidacloprid resistance in *Nilaparvata lugens*: Cross-resistance patterns and possible mechanisms [J]. Pest Management Science, 2003, 59 (12): 1355-1359.

[25] 周琼,熊正燕,欧晓明. 苍耳甾醇物质对菜青虫取食、血淋巴和中肠酶活性及中肠组织的影响[J]. 昆虫学报, 2011, 54 (9): 1034-1041. (Zhou Q, Xiong Z Y, Ou X M. Effects of sterols from *Xanthium sibiricum* (Compositae) on feeding, enzyme activities in the hemolymph and midgut, and midgut tissues of *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae) larvae [J]. Acta Entomologica Sinica, 2011, 54(9): 1034-1041.)

[26] 王娟,戴华国,李洪山. 印楝素作用下小菜蛾体内MFO和JHE活力的变化[J]. 江西农业学报, 2006(4): 121-125. (Wang J, Dai H G, Li H S. Changes of JHE and MFO activity in body of *Plutella xylostella* under neem treating [J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 2006(4): 121-125.)

[27] 孙涛. 果蝇对印楝素胁迫的氧化应激机制研究[D]. 广州:华南农业大学, 2016: 27-28. (Sun T. The mechanism of oxidative stress in *Drosophila melanogaster* induced by azadirachtin stress [D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2016: 27-28.)

[28] 王红,徐忠新,赵奎军,等. 致死中浓度吡虫啉对大豆蚜体内能源物质含量的影响[J]. 中国生物防治学报, 2014, 30(5): 654-659. (Wang H, Xu Z X, Zhao K J, et al. Effects of median lethal concentration of imidacloprid on accumulation of energy substances in *Aphis glycines* (Homoptera: Aphididae) [J]. Chinese Journal of Biological Control, 2014, 30(5): 654-659.)