

热驯化对禾谷缢管蚜杀虫剂敏感性 及解毒酶的影响*

李兴烨** 李玉婷***

(沈阳农业大学植物保护学院, 沈阳 110866)

摘要 【目的】明确热驯化 (27 °C) 对禾谷缢管蚜 *Rhopalosiphum padi* 杀虫剂敏感性及其体内解毒酶的影响。【方法】采用带虫浸叶法、酶活力测定和实时荧光定量 PCR 分别测定杀虫剂的敏感性、解毒酶活力和基因表达量。【结果】热驯化后禾谷缢管蚜对 6 种杀虫剂的敏感性改变, 其中啉虫脒的相对毒力指数最高 (4.59)。增效剂试验结果显示, 在常温 (CK) 和热驯化 (HA) 品系中顺丁烯二酸二乙酯 (Diethyl maleate, DEM) 对啉虫脒无明显增效作用, 而胡椒基丁醚 (Piperonyl butoxide, PBO) 对啉虫脒增效作用显著, 增效比分别为 3.95 和 22.41, 但磷酸三苯酯 (Triphenyl phosphate, TPP) 仅在热驯化品系中对啉虫脒增效作用显著, 增效比为 4.82。解毒酶活力测定表明, 禾谷缢管蚜热驯化品系中细胞色素 P450 (P450) 酶活性显著高于常温品系。定量分析显示, 解毒酶基因 *CarE* (2.1, $P=0.037$)、*GSTO* (1.7, $P=0.035$)、*CYP6CY7* (7.0, $P=0.003$) 和 *CYP6CZ1* (1.9, $P=0.013$) 表达量在热驯化品系中显著上调, 而 *CYP6CJ1* (0.40, $P=0.026$) 在热驯化品系中显著下调。【结论】热驯化显著提高禾谷缢管蚜对啉虫脒的敏感性以及 PBO 和 TPP 对啉虫脒的增效作用; 热驯化显著提高禾谷缢管蚜体内解毒酶 P450 活性, 且显著诱导 5 个解毒酶基因的差异表达。

关键词 禾谷缢管蚜; 热驯化; 毒力测定; 增效剂; 解毒酶

The effects of heat acclimation on insecticide susceptibility and detoxification enzyme of *Rhopalosiphum padi*

LI Xing-Ye** LI Yu-Ting***

(College of Plant Protection, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China)

Abstract [Aim] To investigate the effects of heat acclimation (27 °C) on insecticide susceptibility and detoxification enzyme activity of *Rhopalosiphum padi*. [Methods] The leaf-dipping method, enzyme activity assay and real-time quantitative PCR (RT-qPCR) were used to measure insecticide susceptibility, detoxification enzymes activity, and gene expression, respectively, in *R. padi*. [Results] Heat acclimation had a significant effect on the susceptibility of *R. padi* to six insecticides, with acetamiprid having the highest index of relative toxicity (4.59). Synergist experiment showed that diethyl maleate (DEM) had no significant synergistic effect on acetamiprid in either the control (CK) or heat acclimation (HA) strains. Conversely, piperonyl buoxide (PBO) had a significant synergistic effect on acetamiprid in both CK and HA strain, with synergism ratios of 3.95 and 22.41, respectively. Moreover, triphenyl phosphate (TPP) had a significant synergistic effect on acetamiprid in the HA strain, with a synergism ratio of 4.82. The activity of cytochrome P450 (P450) in the HA strain was significantly higher than CK strain. RT-qPCR revealed that the expression of *CarE* (2.1, $P=0.037$), *GSTO* (1.7, $P=0.035$), *CYP6CY7* (7.0, $P=0.003$) and *CYP6CZ1* (1.9, $P=0.013$) was significantly upregulated in the HA strain, while *CYP6CJ1* (0.40, $P=0.026$) was significantly downregulated in the HA strain. [Conclusion] Heat acclimation significantly increased the

*资助项目 Supported project: 国家自然科学基金项目 (31801733)

**第一作者 First author, E-mail: 15186050289@163.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: yutingli2017@syau.edu.cn

收稿日期 Received: 2023-03-02; 接受日期 Accepted: 2023-12-15

sensitivity of *R. padi* to acetamiprid, and the synergism of piperonyl butoxide and triphenyl phosphate on acetamiprid. Heat acclimation significantly increased the activity of detoxifying enzyme P450 and induced the differential expression of five detoxification enzyme genes.

Key words *Rhopalosiphum padi*; heat acclimation; toxicity assay; synergist; detoxification enzyme

由于温室气体的排放和人类活动等因素,导致全球气候不断变暖。自 1980 年以来,我国每十年最高温度和最低温度分别平均升高 0.352 和 0.548 °C (Zhou *et al.*, 2004)。全球气候变暖与农作物病虫害的发生息息相关,直接影响农业生产和粮食安全 (Battisti and Naylor, 2009; Lin *et al.*, 2013; Rosenzweig *et al.*, 2014; Sherwood, 2020)。昆虫作为变温动物,温度是影响昆虫生长发育的重要环境因子,不适温度会对昆虫的生长发育、寿命、繁殖力和代谢能力等造成影响 (Neven, 2000)。目前农业害虫防治仍以化学防治为主,而杀虫剂的毒力具有温度依赖性 (Khan and Akram, 2014; Jegede *et al.*, 2017; Mao *et al.*, 2019)。田间温度的升高,一方面影响杀虫剂的理化性质如稳定性、挥发和降解等,另一方面影响昆虫的生理状态如对杀虫剂的吸收、代谢和排泄等 (Camp and Buchwalter, 2016; Liu *et al.*, 2016; Whiten and Peterson, 2016)。因此,明确昆虫在高温胁迫下对杀虫剂的敏感性和抗药性的变化及分子机制,对于气候变暖条件下害虫的抗性治理具有重要意义。

昆虫可以通过表型可塑性来应对不利环境,如通过短时热锻炼或长期驯化可以提高昆虫的温度耐受性,也可能对杀虫剂敏感性和抗药性等产生交互影响 (Swain *et al.*, 2009; Verheyen and Stoks, 2019; Meng *et al.*, 2022)。高温胁迫下昆虫体内有毒物质的积累增多,酶的构象和活力发生改变 (Neven, 2000; 杜尧等, 2007; El-shesheny *et al.*, 2016)。昆虫体内解毒酶活力的改变和解毒酶基因的过表达导致解毒代谢能力的增强,是昆虫对杀虫剂产生抗药性的主要机制之一 (Li *et al.*, 2007; Bras *et al.*, 2022),因此,高温胁迫下昆虫体内解毒酶活性和基因表达量的变化将影响昆虫对杀虫剂的敏感性 (Guo *et al.*, 2018; Mao *et al.*, 2019; Langmüller *et al.*, 2020)。

禾谷缢管蚜 *Rhopalosiphum padi* 属于半翅目 Hemiptera 蚜科 Aphididae, 是小麦上的重要害虫 (张广学和钟铁森, 1983; Ma *et al.*, 2015)。禾谷缢管蚜不仅刺吸小麦汁液危害,分泌蜜露引起煤污病,而且还可传播大麦黄矮病毒 (Barley yellow dwarf virus, BYDV), 给世界小麦生产造成严重损失 (Savaris *et al.*, 2013; 马春森等, 2014)。禾谷缢管蚜在我国各小麦种植区均有发生,且逐渐成为我国各麦区麦蚜优势种 (Sun *et al.*, 2009; Ma *et al.*, 2015)。气候变暖和抗药性上升等因素是导致禾谷缢管蚜分布面积扩大和危害加重的重要原因 (Sun *et al.*, 2009; Ma *et al.*, 2015)。然而,气候变暖导致的温度升高对禾谷缢管蚜杀虫剂敏感性的影响尚不明确。本研究通过测定 6 种杀虫剂对禾谷缢管蚜常温种群和热驯化种群的毒力,分析两个种群解毒酶活力和解毒酶基因表达量差异,旨在明确热驯化对禾谷缢管蚜杀虫剂敏感性及解毒酶的影响,为全球变暖背景下禾谷缢管蚜的抗性治理和合理用药提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

供试禾谷缢管蚜由西北农林科技大学植物保护学院陈茂华教授惠赠,不接触药剂的情况下于人工气候箱 (宁波江南仪器厂, Rxz-380B) 内继代饲养,供试小麦为 ‘长丰 2112’, 饲养条件为:温度 (24±1) 和 (27±1) °C、相对湿度 70%±5%、光周期 16 L : 10 D。根据禾谷缢管蚜生长发育温度上限和全球气候变暖趋势,选择 27 °C 作为长期驯化高温 (Easterling *et al.*, 2000; Luis and Xavier, 2001)。其中,饲养温度为 24 °C 的设定为常温品系 (CK), 饲养温度为 27 °C 的设定为热驯化品系 (Heat acclimation strain, HA), 两种群均室内持续饲养 100 代以上。

1.2 供试试剂

98.00%啉虫脒原药、97.30%吡虫啉原药、97.00%阿维菌素原药购自河北威远生化农药有限公司; 96.00%毒死蜱原药、95.00%高效氯氰菊酯原药和 97.25%灭多威原药购自江苏常隆农化有限公司。96.00%顺丁烯二酸二乙酯 (Diethyl maleate, DEM)、98.00%磷酸三苯酯 (Triphenyl phosphate, TPP)、95.00%胡椒基丁醚 (Piperonyl butoxide, PBO) 购自阿拉丁试剂 (上海) 有限公司; 乙酰胆碱酯酶 (Carboxylesterases, CarE) 和谷胱甘肽 *S*-转移酶 (Glutathione *S*-transferases, GSTs) 活性测定试剂盒购自苏州科铭生物技术有限公司; BCA (Bicinchoninic acid) 蛋白质定量检测试剂盒购自上海生工生物股份有限公司; 引物由上海生工生物股份有限公司合成; Trizol 购自 Ambion (美国); 反转录试剂盒 (All-in-One cDNA Synthesis Super Mix)、2×SYBR Green qPCR Master Mix 购自 Bimake 公司。

1.3 生物测定

采用带虫浸叶法 (Wang *et al.*, 2018b) 测定禾谷缢管蚜对杀虫剂的敏感性。以丙酮作为有机溶剂, 将供试药剂配制成 10 g/L 的母液, 用含有 0.01% 的 Triton X-100 水溶液等比稀释 5 个浓度梯度。将带有禾谷缢管蚜无翅成蚜的小麦叶片在药液中浸渍 10 s, 用吸水纸吸去多余的药液, 放置在带有保湿滤纸的 10 cm × 10 cm 的塑料培养皿中自然风干。处理后的禾谷缢管蚜分别置于温度 (24±1) 和 (27±1) °C、相对湿度 70%±5%、光周期 16 L : 10 D 条件下饲养。每个处理 20-30 头, 重复 3 次, 以含有 0.01% 的 Triton X-100 水溶液作对照。24 h 后检查死亡率, 用毛笔轻触虫体, 不能活动的视为死亡, 分别统计不同处理的存活和死亡数。

1.4 增效剂对啉虫脒的增效作用

以丙酮作为有机溶剂, 将 98.00%啉虫脒原药配制成 10 g/L 的母液, 用含有 0.01% 的 Triton X-100 水溶液等比稀释 5 个浓度梯度, 加入增效剂 (DEM、TPP 和 PBO) 与不同浓度的药剂混合至终浓度为 100 mg/L (Wang *et al.*, 2018b),

用带虫浸叶法进行毒力测定, 测定方法同 1.3 节。增效值用 Bradford 的方法计算增效比 (Synergistic ratio, SR), SR=单一药剂对禾谷缢管蚜的 LC₅₀ 值/药剂对增效剂处理的禾谷缢管蚜的 LC₅₀ 值。

1.5 解毒酶活力测定

选取相同日龄的不同品系的禾谷缢管蚜无翅成蚜, 每个重复 3 头成虫, 每个处理重复 4 次。CarE 和 GSTs 的活性测定分别参照试剂盒说明书进行, 细胞色素 P450 酶 (P450) 活性测定参考 Hu 等 (2023), 蛋白质浓度以牛血清蛋白为标准品, 采用 BCA 试剂盒进行测定。

1.6 解毒酶基因相对表达量分析

收集相同日龄的不同品系禾谷缢管蚜无翅成蚜, 每个重复 5 头成虫, 每个处理重复 3 次。通过 Trizol 法提取总 RNA, 使用反转录试剂盒合成 cDNA 第一链, 以 β -actin 基因为内参, 参考禾谷缢管蚜抗药性相关解毒酶基因序列使用软件 Primer 5 设计定量引物 (表 1)。RT-qPCR 反应体系为 20 μ L, 包含 10 μ L 2×SYBR Green qPCR Master Mix, 0.8 μ L 上下游引物, 2 μ L cDNA 模板和 6.4 μ L RNase-free H₂O。反应程序为: 95 °C 30 s, 40 个如下循环: 95 °C 5 s, 60 °C 30 s; 添加熔解曲线, 95 °C 10 s, 65 °C 5 s。

1.7 数据分析

生物测定数据使用 SPSS 26.0 软件中 Probit 回归方法进行分析, 计算出毒力回归方程、致死中浓度 (LC₅₀)、95%置信区间、卡方值及 *P* 值。解毒酶基因的相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 的方法计算 (Schmittgen and Livak, 2008)。解毒酶活力和相对表达量数据的差异显著性使用 SPSS 26.0 软件中独立样本 *t* 检验分析, 显著性水平为 *P*<0.05。

2 结果与分析

2.1 不同禾谷缢管蚜品系对 6 种杀虫剂的敏感性

采用带虫浸叶法分别测定了 6 种杀虫剂对禾谷缢管蚜的毒力, 结果显示, 高效氯氰菊酯对 2 个禾谷缢管蚜品系毒力最大, LC₅₀ 值分别为

0.25 和 0.38 mg/L, 而灭多威对 2 个禾谷缢管蚜品系毒力最低, LC_{50} 值分别为 110.86 和 100.40 mg/L。经过长期热驯化后, 禾谷缢管蚜对啉虫脒、吡虫啉和高效氯氰菊酯的敏感性下降, 相对

毒力指数分别为 4.59、1.58 和 1.52, 其中啉虫脒敏感性下降最多, 而对阿维菌素、毒死蜱和灭多威的敏感性升高, 相对毒力指数分别为 0.76、0.63 和 0.91 (表 2)。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物
Table 1 Primers designed for quantitative real-time PCR

引物 Primer	序列 (5'-3') Sequence (5'-3')	扩增效率 (%) Amplification efficiency (%)	参考序列 Reference sequence	引物来源 Primer source
Actin-qF	GCCCAATCCAAAAGAGGTAT	100.336	KJ612090.1	Balakrishnan <i>et al.</i> , 2018
Actin-qR	TCAAAGGTGCTTCCGTTAGT			
GSTO-qF	CCAAAGGTGCTAGGCTCATT	99.157	MG709032	Balakrishnan <i>et al.</i> , 2018
GSTO-qR	CTGTTTCGTCGAGGAAGTCTG			
GST1-qF	TGGAAGCGACCAAAGCAATA	101.200	KP192850	本试验设计 Design for this study
GST1-qR	CAACGTCAAACTCCAAC			
CYP6Y7-qF	GGTGGAGAACGATGCGA	100.454	MK534503.1	王康, 2019
CYP6Y7-qR	CTTTTTTGCCGAACCTTGC			
CYP6CZ1-qF	GCGGTTTCGGTGGCATTTA	104.696	MK534505.1	王康, 2019
CYP6CZ1-qR	TGTTGAGTGGGTTCGTGTG			
CYP4CJ1-qF	TGGTTGAACAAAGGGCTA	118.752	MK534508.1	王康, 2019
CYP4CJ1-qR	GACTAACGAACGGGAATG			
CE-qF	TGAAAATCACAGAGTCGCAGCC	109.127	MH561903.1	Wang <i>et al.</i> , 2018a
CE-qR	CAGAAAACCATTGTCTCTCTTG			

表 2 禾谷缢管蚜常温和热驯化品系对 6 种杀虫剂的敏感性
Table 2 Sensitivity of control and heat acclimation strains of *Rhopalosiphum padi* to six insecticides

杀虫剂 Insecticide	品系 Strain	斜率±标准误 Slope±SE	致死中浓度 (95% FL) (mg/L) LC_{50} (mg/L)	卡方 (自由度) χ^2 (df)	P	相对毒力指数 Index of relative toxicity
吡虫啉	CK	0.87±0.14	2.38(1.71-5.02)	1.65(3)	0.649	1.00
Imidacloprid	HA	1.06±0.13	3.76(2.21-6.36)	6.47(3)	0.091	1.58
啉虫脒	CK	1.37±0.18	0.83(0.42-1.38)	14.31(3)	0.003	1.00
Acetamiprid	HA	2.06±0.33	3.81(2.16-5.63)	19.22(3)	0.000	4.59*
高效氯氰菊酯	CK	1.22±0.15	0.25(0.15-0.38)	1.31(3)	0.726	1.00
β -Cypermethrin	HA	4.57±0.88	0.38(0.25-0.48)	1.64(3)	0.651	1.52
阿维菌素	CK	1.26±0.16	0.66(0.43-0.94)	9.23(3)	0.026	1.00
Abamectin	HA	2.23±0.32	0.50(0.36-0.64)	1.80(3)	0.624	0.76
毒死蜱	CK	3.62±0.54	1.53(1.16-1.94)	1.06(3)	0.787	1.00
Chlorpyrifos	HA	4.84±1.60	0.96 (0.82-1.38)	3.92(3)	0.270	0.63
灭多威	CK	0.48±0.10	110.86(20.50-50 277.26)	3.35(3)	0.341	1.00
Methomyl	HA	0.94±0.23	100.40(45.32-932.05)	2.76(3)	0.430	0.91

CK: 常温品系; HA: 热驯化品系; 表 3、表 4 和图 1 同。FL: 置信区间; 相对毒力指数=HA 的 LC_{50} 值 / CK 的 LC_{50} 值。*表示 CK 和 HA 品系的 LC_{50} 95%置信区间不存在重叠, 差异显著; 表 3 同。

CK: Control strain. HA: Heat acclimation strain. The same for Table 3, Table 4 and Fig. 1. FL: Fiducial intervals. Index of relative toxicity = LC_{50} value of HA / LC_{50} value of CK. Asterisk indicates significant difference which the 95% confidence intervals of LC_{50} between CK and HA strains do not overlap. The same for Table 3.

2.2 增效剂对啉虫脒的增效作用

根据 6 种杀虫剂对禾谷缢管蚜的毒力, 选择啉虫脒进行增效剂试验。谷胱甘肽-S-转移酶抑制剂 DEM 在 CK 品系 (SR=1.08) 和 HA 品系 (SR=1.31) 中增效作用不显著; 细胞色素 P450 酶抑制剂 PBO 在 CK 品系 (SR=3.95) 和 HA 品系 (SR=22.41) 中均有显著增效作用; 羧酸酯酶抑制剂 TPP 在 CK 品系 (SR=1.01) 无增效作用, 但在 HA 品系 (SR=4.82) 中表现出显著增效作用 (表 3)。

2.3 解毒酶酶活力分析

对 2 个禾谷缢管蚜品系进行解毒酶活力测定, 结果表明, HA 品系中羧酸酯酶、谷胱甘肽 S-转移酶和 P450 的酶活性分别是 CK 品系的 1.06 ($P=0.798$)、1.27 ($P=0.240$) 和 1.41 倍 ($P=0.002$), 其中 P450 酶活力较对照显著增强 (表 4)。

2.4 解毒酶基因相对表达量分析

对禾谷缢管蚜 6 个解毒酶基因进行了相对表达量分析, 结果表明, 5 个解毒酶基因 (*CarE*、

表 3 3 种增效剂 DEM, PBO 和 TPP 在禾谷缢管蚜常温和热驯化品系中对啉虫脒的增效作用
Table 3 Synergistic effect of three synergists DEM, PBO, and TPP on the toxicity of acetamiprid in control and heat acclimation strains of *Rhopalosiphum padi*

品系 Strain	处理 Treatment	斜率±标准误 Slope±SE	致死中浓度 (95% FL) (mg/L) LC ₅₀ (mg/L)	卡方(自由度) χ^2 (df)	增效比 Synergistic ratio
CK	啉虫脒 Acetamiprid	1.37 ± 0.18	0.83(0.42-1.38)	14.31(3)	1.00
	+顺丁烯二酸二乙酯 Diethyl maleate, DEM	1.02 ± 0.12	0.77(0.404-1.33)	9.04(3)	1.08
	+胡椒基丁醚 Piperomyl butoxide, PBO	1.15 ± 0.13	0.21(0.13-0.32)	9.34(3)	3.95*
	+磷酸三苯酯 Triphenyl phosphate, TPP	1.80 ± 0.30	0.82(0.52-1.14)	5.52(3)	1.01
HA	啉虫脒 Acetamiprid	2.06 ± 0.33	3.81(2.16-5.63)	19.22(3)	1.00
	+顺丁烯二酸二乙酯 Diethyl maleate, DEM	1.52 ± 0.28	2.90(1.36-4.80)	10.62(3)	1.31
	+胡椒基丁醚 Piperomyl butoxide, PBO	1.39 ± 0.19	0.17(0.11-0.25)	7.43(3)	22.41*
	+磷酸三苯酯 Triphenyl phosphate, TPP	1.21 ± 0.17	0.79(0.03-1.53)	8.17(3)	4.82*

表 4 禾谷缢管蚜常温和热驯化品系解毒酶活力
Table 4 Detoxification enzyme activities of control and heat acclimation strains of *Rhopalosiphum padi*

解毒酶 Detoxification enzyme	比活力 (nmol·min ⁻¹ ·μg ⁻¹) Activity (nmol·min ⁻¹ ·μg ⁻¹)		比值 Ratio
	常温品系 CK strain	热驯化品系 HA strain	
乙酰胆碱酯酶 Carboxylesterases, CarE	0.23 ± 0.04 a	0.24 ± 0.02 a	1.06
谷胱甘肽 S-转移酶 Glutathione S-transferases, GSTs	37.77 ± 4.13 a	48.13 ± 3.97 a	1.27
细胞色素 P450 Cytochrome P450, P450	68.14 ± 0.15 a	96.16 ± 0.44 b	1.41

表中数值为平均值±标准误, 同一行数据后标有不同小写字母代表显著差异 ($P<0.05$, T 检验)。
Data in the table are mean ± SE, and followed by the different letters within the same row indicate significant difference ($P<0.05$, T -test).

GSTO、*GSTI*、*CYP6CY7* 和 *CYP6CZ1*) 均在 HA 种群中高表达, 分别为对照的 2.1 ($P=0.037$)、1.7 ($P=0.035$)、3.6 ($P=0.087$)、7.0 ($P=0.003$) 和 1.9 倍 ($P=0.013$), 且 *CarE*、*GSTO*、*CYP6CY7* 和 *CYP6CZ1* 表达量在两品系中差异显著, 1 个解毒酶基因 *CYP6CJ1* (0.40, $P=0.026$) 在 HA 品系中表达量显著下调 (图 1)。

3 讨论

昆虫作为变温动物, 高温胁迫影响其生理代谢和生存 (Easterling *et al.*, 2000; Camp and

Buchwalter, 2016)。全球气候变暖的背景下, 田间极端高温频发, 而温度对昆虫及杀虫剂毒力的影响不容忽视 (Easterling *et al.*, 2000; Deutsch *et al.*, 2018)。已有研究发现, 短时热锻炼或长期热驯化通过改变昆虫的形态、行为和生理代谢等方面提昆虫的温度耐受性 (Swain *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2015; Oliver and Brooke, 2017)。本研究结果表明, 长期热驯化显著影响禾谷缢管蚜对啶虫脒的敏感性和增效剂 (PBO 和 TPP) 对啶虫脒的增效作用, 而且热驯化显著提高解毒酶 P450 酶活力和诱导解毒酶基因的差异表达。

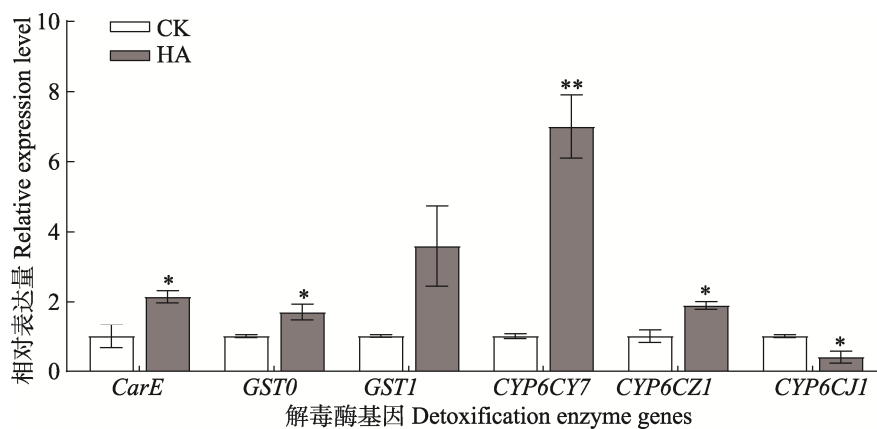


图 1 禾谷缢管蚜常温和热驯化品系解毒酶基因相对表达量

Fig. 1 Relative expression levels of detoxification enzyme genes in control and heat acclimation strains of *Rhopalosiphum padi*

图中数据为平均值±标准误; 柱上星号表示差异显著 (* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$, 独立样本 *t* 检验)。

Data in the figure are mean ± SE. Asterisks above bars indicate significantly different. (* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$, independent samples *t*-test).

不同温度下, 昆虫的生理和杀虫剂活性交互变化, 影响昆虫对杀虫剂的敏感性。如马云华等 (2011) 测定了温度对麦长管蚜 *Sitobion avenae* 杀虫剂毒力的影响, 结果表明, 高效氯氰菊酯表现不规则负温度系数, 啶虫脒为不规则正温度系数, 高效氟氯氰菊酯的毒力不受温度影响, 而辛硫磷、毒死蜱、灭多威、丁硫克百威和吡虫啉均表现为明显的正温度系数效应。Ma 等 (2012) 研究了 8 种杀虫剂在不同温度下对绿盲蝽 *Apolygus lucorum* 的毒力, 结果显示, 随温度升高辛硫磷、丁硫克百威、吡虫啉和啶虫脒的毒力增强, 灭多威、高效氯氰菊酯和高效氟氯氰菊酯

毒力减弱, 而温度对氟虫腈毒力影响不规则。Khan 和 Akram (2014) 测定了 7 种杀虫剂在不同温度下对家蝇 *Musca domestica* 的毒力, 结果表明, 毒死蜱、丙溴磷、甲氨基阿维菌素和氟虫腈的毒力随温度升高而增强, 氯氰菊酯、溴氰菊酯和多杀菌素的毒力随温度升高而减弱。Mao 等 (2019) 测定了杀虫剂在不同温度下对褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 的毒力, 结果显示, 随温度升高杀虫剂环丙氧虫啉、烯啶虫胺、三氟苯嘧啶和毒死蜱的毒力增强。此外, 随着温度的升高, 阿维菌素对西花蓟马 *Frankliniella occidentalis* 的毒力增强 (Li *et al.*, 2014), 吡虫啉对蚜蟥 *Isonychia*

bicolor 的毒力下降 (Camp and Buchwalter, 2016)。本研究结果显示, 阿维菌素、毒死蜱和灭多威对禾谷缢管蚜 27 °C 种群的毒力增强, 而啉虫脒、吡虫啉和高效氯氰菊酯的毒力下降, 表明温度对不同类型杀虫剂的影响存在种间差异, 明确温度对杀虫剂的影响, 在杀虫剂的合理选择和提高防效、害虫综合治理和抗药性中具有重要意义。

解毒酶代谢活力的增强是昆虫产生抗性的重要原因之一, 气候变暖影响昆虫的代谢能力, 解毒酶对温度变化的响应会影响昆虫本身对杀虫剂的敏感性 (Liu *et al.*, 2016; Guo *et al.*, 2018)。高温影响昆虫体内解毒酶活力, 一些研究表明温度和解毒酶活力正相关, 如 Li 等 (2014) 表明高温显著提高西花蓟马体内 GST 活力, Perrin 等 (2022) 发现整个发育阶段的高温处理显著提高苹果蠹蛾 *Cydia pomonella* 体内 CarE、P450 和 GST 酶活力; 但也一些研究显示温度和解毒酶活力负相关或不相关, 如刘佳等 (2015) 发现高温抑制绿盲蝽体内解毒酶 [GST、CarE 和多功能氧化酶 (Multifunction oxidases, MFO)] 活力, Mao 等 (2019) 研究表明高温显著抑制褐飞虱体内解毒酶 P450 和 GST 活力, 而 CarE 活力无显著差异。本研究结果显示, HA 品系中 CarE、GST 活力与对照无显著差异, 而 P450 酶活力显著提高, 以上研究结果表明, 解毒酶活力对温度的响应与处理温度、处理时间以及昆虫种类关系密切, 本研究中 HA 品系中 CarE 和 GST 活力虽有升高但不显著, 可能与热驯化温度不高有关。增效剂试验是研究昆虫代谢抗性的有力工具 (Gonzalez-Morales and Romero, 2019), 本研究中增效剂试验结果表明, PBO 在 CK 和 HA 品系均对啉虫脒增效作用显著, 而 TPP 仅在 HA 品系中有显著增效作用, 与郭天凤等 (2014) 在棉蚜 *Aphis gossypii* 上的研究结果一致。Ninsin 和 Tanaka (2005) 通过增效剂试验表明 P450 和酯酶在小菜蛾 *Plutella xylostella* 对啉虫脒的抗性中起重要作用。因此, 本研究结果表明热驯化后 P450 和 CarE 在禾谷缢管蚜对啉虫脒的解毒代谢中具有重要作用。

温度胁迫不仅引起解毒酶活力的改变, 而且介导昆虫体内解毒酶基因的表达 (Lopez-martinez *et al.*, 2008)。Huang 等 (2017) 及 Vatanparast 和 Park (2022) 研究表明高低温处理后褐飞虱和草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 中大量 P450 基因差异表达。Guo 等 (2018) 研究发现 31 和 35 °C 高温处理后 Q 型烟粉虱 *Bemisia tabacci* 体内 5 个 P450 和 1 个 GST 基因差异表达。同样, 本研究中发现热驯化导致禾谷缢管蚜体内解毒酶基因 (*CarE*、*GSTO*、*CYP6CY7*、*CYP6CZ1* 和 *CYP6CJ1*) 的差异表达, 表明热驯化介导了禾谷缢管蚜解毒酶基因的表达。本研究发现热驯化仅引起解毒酶 P450 在基因表达量和酶活力上显著改变, 而 CarE 和 GST 仅在基因表达量上差异显著, Perrin 等 (2022) 同样报道了苹果蠹蛾中解毒酶基因表达量和酶活力结果的不一致, 可能与酶活力反映整个家族的整体活力, 而表达量仅代表单个基因的结果有关 (Perrin *et al.*, 2022)。

综上所述, 本研究明确了热驯化后禾谷缢管蚜对 6 种杀虫剂敏感性以及解毒酶的变化, 研究结果在未来全球气候变暖情况下, 为禾谷缢管蚜抗性发展趋势预测提供理论依据, 并对禾谷缢管蚜的综合防治及合理用药具有指导意义。

参考文献 (References)

- Balakrishnan B, Su S, Wang K, Tian RZ, Chen MH, 2018. Identification, expression, and regulation of an omega class glutathione *S*-transferase in *Rhopalosiphum padi* (L.) (Hemiptera: Aphididae) under insecticide stress. *Frontiers in Physiology*, 9: 427.
- Battisti DS, Naylor RL, 2009. Historical warnings of future food insecurity with unprecedented seasonal heat. *Science*, 323(5911): 240–244.
- Bras A, Roy A, Heckel DG, Anderson P, Karlsson GK, 2022. Pesticide resistance in arthropods: Ecology matters too. *Ecology Letters*, 25(8): 1746–1759.
- Camp AA, Buchwalter DB, 2016. Can't take the heat: Temperature-enhanced toxicity in the mayfly *Isonychia bicolor* exposed to the neonicotinoid insecticide imidacloprid. *Aquatic Toxicology*, 178: 49–57.
- Cui L, Yang DB, Li KB, Cao YZ, Yuan HZ, 2010. Sublethal effects of pymetrozine on *Rhopalosiphum padi*. *Plant Protection*, 36(6): 26–30. [崔丽, 杨代斌, 李克斌, 曹雅忠, 袁会珠, 2010. 吡蚜

- 酮对禾谷缢管蚜的亚致死效应. 植物保护, 36(6): 26–30.]
- Deutsch CA, Tewksbury JJ, Tigchelaar M, Battisti DS, Merrill SC, Huey RB, Naylor RL, 2018. Increase in crop losses to insect pests in a warming climate. *Science*, 361(6405): 916–919.
- Du Y, Ma CS, Zhao QH, Ma G, Yang HP, 2007. Effects of heat stress on physiological and biochemical mechanisms of insects: A literature review. *Acta Ecologica Sinica*, 27(4): 1565–1572. [杜尧, 马春森, 赵清华, 马罡, 杨和平, 2007. 高温对昆虫影响的生理生化作用机理研究进展. 生态学报, 27(4): 1565–1572.]
- Easterling DR, Meehl GA, Parmesan C, Changnon SA, Karl TR, Mearns LO, 2000. Climate extremes: Observations, modeling, and impacts. *Science*, 289(5487): 2068–2074.
- El-shesheny I, Hijaz F, El-hawary I, Mesbah I, Killiny N, 2016. Impact of different temperatures on survival and energy metabolism in the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama. *Comparative Biochemistry and Physiology A-Molecular & Integrative Physiology*, 192: 28–37.
- Gonzalez-Morales MA, Romero A, 2019. Effect of synergists on deltamethrin resistance in the common bed bug (Hemiptera: Cimicidae). *Journal of Economic Entomology*, 112(2): 786–791.
- Guo L, Su MM, Liang P, Li S, Chu D, 2018. Effects of high temperature on insecticide tolerance in whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius) Q biotype. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 150: 97–104.
- Guo TF, Shi XY, Gao XW, Liu XN, 2014. Cross-resistance to, and synergists of, acetamiprid in *Aphis gossypii*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 51(3): 819–826. [郭天凤, 史雪岩, 高希武, 刘晓宁, 2014. 棉蚜啉虫腈抗性种群交互抗性和增效剂增效作用的研究. 应用昆虫学报, 51(3): 819–826.]
- Hu C, Liu YX, Zhang SP, Wang YQ, Gao P, Li YT, Yang XQ, 2023. Transcription factor *AhR* regulates glutathione *S*-transferases conferring resistance to lambda-cyhalothrin in *Cydia pomonella*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71(13): 5230–5239.
- Huang HJ, Xue J, Zhuo JC, Cheng RL, Xu HJ, Zhang CX, 2017. Comparative analysis of the transcriptional responses to low and high temperatures in three rice planthopper species. *Molecular Ecology*, 26(10): 2726–2737.
- Jegadee OO, Owojori OJ, Römbke J, 2017. Temperature influences the toxicity of deltamethrin, chlorpyrifos and dimethoate to the predatory mite *Hypoaspis aculeifer* (Acari) and the springtail *Folsomia candida* (Collembola). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 140: 214–221.
- Khan HA, Akram W, 2014. The effect of temperature on the toxicity of insecticides against *Musca domestica* L.: Implications for the effective management of Diarrhea. *PLoS ONE*, 9(4): e95636.
- Langmüller AM, Nolte V, Galagedara R, Poupardin R, Dolezal M, Schlötterer C, 2020. Fitness effects for Ace insecticide resistance mutations are determined by ambient temperature. *BMC Biology*, 18(1): 157.
- Li HB, Zheng YT, Sun DD, Wang JJ, Du YZ, 2014. Combined effects of temperature and avermectins on life history and stress response of the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 108: 42–48.
- Li XC, Schuler MA, Berenbaum MR, 2007. Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. *Annual Review of Entomology*, 52: 231–253.
- Lin YY, Jin T, Zeng L, Lu YY, 2013. Insecticide toxicity to oriental fruit fly *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae) is influenced by environmental factors. *Journal of Economic Entomology*, 106(1): 353–359.
- Liu J, Gao ZL, Dang ZH, Pan WL, Yuan WL, Zhu LH, Li YF, 2015. The effect of temperature on the activity of three detoxification enzymes in *Apolygus lucorum*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 52(3): 609–615. [刘佳, 高占林, 党志红, 潘文亮, 袁文龙, 朱丽红, 李耀发, 2015. 不同温度效应杀虫剂诱导对绿盲蝽三种解毒酶活力的影响. 应用昆虫学报, 52(3): 609–615.]
- Liu J, Lincoln T, An JJ, Gao Z, Dang ZL, Pan WL, Li YF, 2016. The joint toxicity of different temperature coefficient insecticides on *Apolygus lucorum* (Hemiptera: Miridae). *Journal of Economic Entomology*, 109(4): 1846–1852.
- Lopez-martinez G, Elnitsky MA, Benoit JB, Lee RE, Denlinger DL, 2008. High resistance to oxidative damage in the Antarctic midge *Belgica antarctica*, and developmentally linked expression of genes encoding superoxide dismutase, catalase and heat shock proteins. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 38(8): 796–804.
- Luis A, Xavier P, 2001. Effect of high temperature on the growth and reproduction of corn aphids (Homoptera: Aphididae) and implications for their population dynamics on the Northeastern Iberian Peninsula. *Environmental Entomology*, 30(6): 1127–1134.
- Ma CS, Ma G, Zhao F, 2014. Impact of global warming on cereal aphids. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 51(6): 1435–1443. [马春森, 马罡, 赵飞, 2014. 气候变暖对麦蚜的影响. 应用昆虫学报, 51(6): 1435–1443.]
- Ma G, Rudolf V, Ma CS, 2015. Extreme temperature events alter demographic rates, relative fitness, and community structure. *Global Change Biology*, 21(5): 1794–1808.
- Ma YH, Gao ZL, Dang ZH, Li YF, Pan WL, 2012. Effect of temperature on the toxicity of several insecticides to *Apolygus lucorum* (Heteroptera: Miridae). *Journal of Pesticide Science*, 37(2): 135–139.
- Ma YH, Gao ZL, Li YF, Dang ZH, Pan WL, 2011. Effect of

- temperature on the toxicity of several insecticides to the English grain aphid, *Sitobion avenae*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 48(6): 1661–1668. [马云华, 高占林, 李耀发, 党志红, 潘文亮, 2011. 四种类型杀虫剂对麦长管蚜的温度效应及其与主要解毒酶的关系. *应用昆虫学报*, 48(6): 1661–1668.]
- Mao KK, Jin RH, Li WH, Ren ZJ, Qin XY, He S, Li JH, Wan H, 2019. The influence of temperature on the toxicity of insecticides to *Nilaparvata lugens* (Stål). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 156: 80–86.
- Meng S, Delnat V, Stoks R, 2022. Multigenerational effects modify the tolerance of mosquito larvae to chlorpyrifos but not to a heat spike and do not change their synergism. *Environmental Pollution*, 292(Pt A): 118333.
- Neven LG, 2000. Physiological responses of insects to heat. *Postharvest Biology and Technology*, 21(1): 103–111.
- Ninsin KD, Tanaka T, 2005. Synergism and stability of acetamiprid resistance in a laboratory colony of *Plutella xylostella*. *Pest Management Science*, 61(8): 723–737.
- Oliver SV, Brooke BD, 2017. The effect of elevated temperatures on the life history and insecticide resistance phenotype of the major malaria vector *Anopheles arabiensis* (Diptera: Culicidae). *Malaria Journal*, 16(1): 73.
- Perrin M, Moiroux J, Maugin S, Olivares J, Rault, M, Siegwart M, 2022. Cross effects of heat stress and three insecticides on the survival of the codling moth *Cydia pomonella* (L.): Investigating the molecular and biochemical mechanisms. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 185: 105139.
- Rosenzweig C, Elliott J, Deryng D, 2014. Assessing agricultural risks of climate change in the 21st century in a global gridded crop model intercomparison. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(9): 3268–3273.
- Savaris M, Lampert S, Salvadori JR, Lau D, Pereira PR, Smaniotto MA, 2013. Population growth and damage caused by *Rhopalosiphum padi* (L.) (Homoptera, Aphididae) on different cultivars and phenological stages of wheat. *Neotropical Entomology*, 42(5): 539–543.
- Schmittgen TD, Livak KJ, 2008. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method. *Nature Protocols*, 3(6): 1101–1108.
- Sherwood SC, 2020. Adapting to the challenges of warming. *Science*, 370(6518): 782–783.
- Sun YC, Chen FJ, Ge F, 2009. Elevated CO₂ changes interspecific competition among three species of wheat aphids: *Sitobion avenae*, *Rhopalosiphum padi*, and *Schizaphis graminum*. *Environmental Entomology*, 38(1): 26–34.
- Swain V, Seth RK, Mohanty SS, Raghavendra K, 2008. Effect of temperature on development, eclosion, longevity and survivorship of malathion-resistant and malathion-susceptible strain of *Culex quinquefasciatus*. *Parasitology Research*, 103(2): 299–303.
- Swain V, Seth RK, Raghavendra K, Mohanty SS, 2009. Characterization of biochemical based insecticide resistance mechanism by thermal bioassay and the variation of esterase activity in *Culex quinquefasciatus*. *Parasitology Research*, 104(6): 1307–1313.
- Vatanparast M, Park Y, 2022. Differential transcriptome analysis reveals genes related to low- and high-temperature stress in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. *Frontiers in Physiology*, 12: 827077.
- Verheyen J, Stoks R, 2019. Current and future daily temperature fluctuations make a pesticide more toxic: Contrasting effects on life history and physiology. *Environmental Pollution*, 248: 209–218.
- Wang K, 2019. Cytochrome P450 and carboxylesterase mediated insecticide resistance in *Rhopalosiphum padi*. Doctor dissertation. Yangling: Northwest A & F University. [王康, 2019. 细胞色素 P450 和羧酸酯酶在禾谷缢管蚜抗药性中的作用. 博士学位论文. 杨凌: 西北农林科技大学.]
- Wang K, Huang YN, Li XY, Chen MH, 2018a. Functional analysis of a carboxylesterase gene associated with isoprocarb and cyhalothrin resistance in *Rhopalosiphum padi* (L.). *Frontiers in Physiology*, 9: 992.
- Wang K, Zhang M, Huang YN, Yang ZL, Su S, Chen MH, 2018b. Characterisation of imidacloprid resistance in the bird cherry-oat aphid, *Rhopalosiphum padi*, a serious pest on wheat crops. *Pest Management Science*, 74(6): 1457–1465.
- Whiten SR, Peterson RK, 2016. The influence of ambient temperature on the susceptibility of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) to the pyrethroid insecticide permethrin. *Journal of Medical Entomology*, 53(1): 139–143.
- Zhang GX, Zhong TS, 1983. Economic Insect Fauna of China Fascicle 25, Homoptera: Aphidinea, Part I. Beijing: Science Press. 356–362. [张广学, 钟铁森, 1983. 中国经济昆虫志, 第二十五册, 同翅目蚜虫类(一). 北京: 科学出版社. 356–362.]
- Zhang LJ, Jing YP, Li XH, Li CW, Bourguet D, Wu G, 2015. Temperature-sensitive fitness cost of insecticide resistance in Chinese populations of the diamondback moth *Plutella xylostella*. *Molecular Ecology*, 24(7): 1611–1627.
- Zhou LM, Dickinson RE, Tian YH, Fang JY, Li QX, Kaufmann RK, Tucker CJ, Myneni RB, 2004. Evidence for a significant urbanization effect on climate in China. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(26): 9540–9544.