

不同浓度噻虫嗪对点蜂缘蝽若虫体内 保护酶和解毒酶活性的影响*

王自杰^{1,2**} 杨芳哲² 柳添杰² 田鑫月²

王月英³ 史树森^{2***} 高宇^{2***}

(1. 黑龙江省农业科学院佳木斯分院, 农业部佳木斯作物有害生物科学观测实验站, 佳木斯 154007;

2. 吉林农业大学植物保护学院, 农业农村部大豆病虫害防控重点实验室, 长春 130118;

3. 宿州市农业科学院, 宿州 234099)

摘要 【目的】 探明不同浓度噻虫嗪胁迫点蜂缘蝽 *Riptortus pedestris* F₀ 代 3 龄若虫后, 其体内和 F₁ 代 3 龄若虫体内保护酶和解毒酶活性的变化。【方法】 采用药液浸渍法, 将清水浸成的“肾型”大豆籽粒, 浸入 25% 噻虫嗪水分散粒剂 (Water dispersible granule, WG) 用清水配置成 LC₁₀ (5.2 mg/L)、LC₂₀ (11.2 mg/L)、LC₃₀ (19.6 mg/L)、LC₄₀ (31.6 mg/L) 和 LC₅₀ (49.4 mg/L) 药液 20 s, 设清水对照处理。喂食点蜂缘蝽 F₀ 代 3 龄若虫 24 h 后, 分别将各处理存活的若虫, 一部分测定其体内过氧化物酶 (Peroxidase, POD)、过氧化氢酶 (Catalase, CAT)、超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD)、乙酰胆碱酯酶 (Acetylcholinesterase, AChE)、谷胱甘肽转移酶 (Glutathione S-transferase, GST) 和羧酸酯酶 (Carboxylesterase, CarE) 的酶活性变化; 另一部分放入养虫笼中喂食清水处理的大豆籽粒, 饲养至 F₁ 代若虫发育至 3 龄时, 测定其体内 POD、CAT、SOD、AChE、GST 和 CarE 的酶活性变化。【结果】 不同浓度噻虫嗪处理后, F₀ 代若虫体内 POD、CAT、SOD、GST 及 CarE 活性均高于对照组; F₁ 代若虫体内 POD、AChE、GST 和 CarE 的酶活性高于对照组。所有浓度处理下, 点蜂缘蝽 F₁ 代若虫体内 POD、GST 和 CarE 的酶活性均高于 F₀ 代; 在 LC₂₀-LC₅₀ 浓度处理, 点蜂缘蝽 F₁ 代若虫体内 AChE 的酶活性均高于 F₀ 代。点蜂缘蝽 F₀ 和 F₁ 代若虫体内保护酶和解毒酶的活性与噻虫嗪浓度呈正相关。【结论】 在噻虫嗪胁迫下, F₀ 代若虫通过提高体内 POD、CAT、SOD、GST 和 CarE 的酶活性进行解毒代谢, F₁ 代若虫则通过提高 POD、AChE、GST 和 CarE 活性进行解毒代谢。POD、AChE、GST 和 CarE 酶活性的增加可能是点蜂缘蝽 F₁ 代若虫产生抗药性的主要原因。

关键词 点蜂缘蝽; 噻虫嗪; 保护酶; 解毒酶; 抗药性

Effects of different concentrations of thiamethoxam on the activity of protective and detoxification enzymes in *Riptortus pedestris*

WANG Zi-Jie^{1,2**} YANG Fang-Zhe² LIU Tian-Jie² TIAN Xin-Yue²

WANG Yue-Ying³ SHI Shu-Sen^{2***} GAO Yu^{2***}

(1. Jiamusi Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Observation and Experiment Station of Crop Pests of Jiamusi,

Ministry of Agriculture, Jiamusi 154007, China; 2. College of Plant Protection, Key Laboratory of Soybean Diseases and Pests

Control in Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China;

3. Suzhou Academy of Agricultural Sciences, Suzhou 234099, China)

*资助项目 Supported projects: 黑龙江省省属科研院所科研业务费 (CZKYF2023-1-B005); 黑龙江省重点研发计划 (GA22B014); 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系资助 (CARS-04)

**第一作者 First author, E-mail: wangzijie970102@163.com

***共同通讯作者 Co-corresponding authors, E-mail: sss-63@263.net; gaoy1101@163.com

收稿日期 Received: 2023-12-06; 接受日期 Accepted: 2024-07-03

Abstract [Aim] To measure changes in the activity of protective and detoxifying enzymes in the F_0 and the F_1 generations of the 3rd instar of *Riptortus pedestris* nymphs exposed to different concentrations of thiamethoxam. [Methods] Reniform soybean seeds soaked in water were immersed in 25% thiamethoxam WG that had been diluted with different amounts of water to obtain LC_{10} (5.2 mg/L), LC_{20} (11.2 mg/L), LC_{30} (19.6 mg/L), LC_{40} (31.6 mg/L) and LC_{50} (49.4 mg/L) solutions. Water was the control. F_0 nymphs of *R. pedestris* were fed the treated seeds for 24 hours after which changes in the activity of peroxidase (POD), catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), acetylcholinesterase (AChE), glutathione S-transferase (GST) and carboxylesterase (CarE) in surviving nymphs was measured. Another group of nymphs was placed in cages and fed soybean seeds treated with water until F_1 generation nymphs had developed to the 3rd instar, after which changes in the activity of POD, CAT, SOD, AChE, GST, and CarE were determined *in vivo*. [Results] After treatment with different concentrations of thiamethoxam, the POD, CAT, SOD, GST and CarE activity of F_0 generation nymphs was higher than that of the control group. POD, AChE, GST and CarE activity of F_1 larvae were also higher than that of the control group. The POD, GST and CarE activity of F_1 larvae was higher than those of F_0 larvae for all treatment concentrations. AChE enzyme activity of F_1 larvae was higher than that of F_0 larvae for concentrations in the range of LC_{20} - LC_{50} . Protective and detoxifying enzyme activity in F_0 and F_1 larvae was positively correlated with thiamethoxam concentration. [Conclusion] F_0 *R. pedestris* nymphs detoxify thiamethoxam by increasing their POD, CAT, SOD, GST and CarE enzyme activity, whereas F_1 nymphs detoxify thiamethoxam by increasing their POD, AChE, GST and CarE activity. The observed changes in POD, AChE, GST and CarE enzyme activity may be the mechanism responsible for pesticide resistance in *R. pedestris* F_1 nymphs.

Key words *Riptortus pedestris*; thiamethoxam; protective enzymes; detoxification enzymes; drug resistance

大豆原产于中国,是我国重要的农产品之一,在食品和加工业领域占有重要地位(姚林, 2020),然而大豆虫害严重影响了其产量和品质。近年来,点蜂缘蝽 *Riptortus pedestris* 在我国黄淮海大豆产区为害严重,已成为大豆生产中需要防治的重要害虫之一。点蜂缘蝽属半翅目 Hemiptera 蛛缘蝽科 Alydidae,在国内广泛分布于吉林、辽宁、北京、天津、山东、山西、陕西、安徽、河北、河南、云南、贵州、四川、江西、江苏和广西等省(自治区、直辖市)(高宇等, 2019),在国外分布于东南亚和东亚地区,包括韩国、日本、印度、巴基斯坦和马来西亚等国家(Kim and Lim, 2010; Gao *et al.*, 2018)。该虫为多食性害虫,主要为害大豆等豆科作物,也可受害丝瓜、白菜、水稻、棉花和小麦等作物(Li *et al.*, 2019)。点蜂缘蝽以若虫和成虫吸食寄主植物茎、叶、花和荚的汁液,导致叶片卷曲,植株不能正常落叶,种子不饱满、发育不良,形成瘪粒或有荚无粒,俗称“症青”(肖俊红等, 2020)。点蜂缘蝽的发生和为害自黄淮海流域大豆产区向西北和东北大豆产区扩大加重,对大豆安全生产构成严重威胁(高宇和史树森, 2019)。目前,关于点蜂缘蝽的研究主要集中在生物学和生态学

等方面,例如,从基因角度揭示了成虫翅的形成(Fu *et al.*, 2021)及其唾液蛋白的组成与功能(Huang *et al.*, 2021);在田间防治技术方面,各国学者也从不同角度进行了研究,如利用信息素诱杀若虫和成虫(胡壮壮等, 2020)、寄生蜂寄生虫卵(Kim and Lim, 2010; 李文敬等, 2021),以及化学药剂毒杀若虫和成虫(王自杰等, 2020)。

在农业生产中,点蜂缘蝽目前仍以化学防治为主。在大豆植株花期和初荚期,喷施啉虫脒乳油(Emulsifiable concentrate, EC)或氰戊菊酯 EC 等广谱性药剂可取得良好的防治效果(陈菊红等, 2018),也可选用噻虫嗪水分散粒剂(Water dispersible granule, WG)与吡虫啉可湿性粉剂(Wettable powder, WP)两种药剂轮换使用(王自杰等, 2020)。尽管化学药剂在田间表现出高效性和速效性,但难以实现 100% 的杀灭效果。一方面,由于自然环境和时间的影响,药剂会被稀释或部分分解,降低至亚致死浓度;另一方面,由于害虫个体特性不同,接触到杀虫剂的情况有所差异。当昆虫个体暴露于低浓度杀虫剂后,不能被立即杀死,但仍有一定的行为能力,从而产生亚致死效应(Boina *et al.*, 2009; 韩文素等, 2011)。

在化学药剂胁迫下, 昆虫体内的保护酶和解毒酶等众多酶系共同协调降低药剂的毒杀作用。在昆虫生长发育过程中, 过氧化物酶 (Peroxidase, POD)、超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD) 和过氧化氢酶 (Catalase, CAT) 协同清除细胞内因自由基累积产生的毒害, 使自由基保持在低水平的动态平衡状态, 防止其对生物体造成伤害 (张友军等, 2003; 王铭铭等, 2023)。SOD 能催化超氧阴离子自由基 ($O_2^{\cdot-}$) 形成 H_2O_2 , POD 和 CAT 具有分解 H_2O_2 的作用 (Ahmad and Pardini, 1990), 在分解有毒物质时起到保护作用, 因此被称为保护酶系, 常被用作昆虫生理状态的度量指标 (Youn and Jung, 2008)。在昆虫体内 POD、SOD 和 CAT 的活性变化与外界刺激强度相关 (尹姣等, 2012)。正常情况下, 昆虫遭遇病原体入侵或外源物质毒害后, 其体内保护酶系被破坏, 自由基代谢发生异常, 从而诱发脂质过氧化反应, 并可能导致组织细胞发生氧化应激性损伤 (陈建明等, 2002)。昆虫通过改变保护酶活性维持正常的生理代谢, 增强抗逆性和耐药性 (樊艳平等, 2020; 樊宗芳等, 2021)。同时, 昆虫会调节乙酰胆碱酯酶 (Acetylcholinesterase, AChE)、羧酸酯酶 (Carboxylesterase, CarE) 和谷胱甘肽转移酶 (Glutathione S-transferase, GST) 等解毒酶的活性, 这些酶在昆虫分解外源毒物和维持正常生理代谢中发挥重要作用。其活性可被外源和内源化合物诱导, 在昆虫受到环境胁迫时迅速做出反应, 催化有毒物质水解并排出体外, 达到解毒目的 (袁家瑜等, 2020; 樊宗芳等, 2021)。因此, 解毒酶活性的增强常作为昆虫解毒代谢的敏感指标, 也是昆虫对农药产生抗药性的主要原因之一 (Wada *et al.*, 2006)。

本研究通过不同浓度的噻虫嗪胁迫点蜂缘蝽 F_0 代 (亲代) 若虫, 测试其 F_0 代和 F_1 代 (子代) 若虫体内保护酶和解毒酶的变化, 为深入理解点蜂缘蝽的抗药机理提供了理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试虫源: 点蜂缘蝽 F_0 代种群由农业农村

部大豆病虫害防控重点实验室提供。在温度 (24 ± 1) $^{\circ}C$, 相对湿度为 $80\% \pm 5\%$, 光周期 16 L : 8 D 条件下, 每养虫笼中用一盆盛荚期 (R_4) 的盆栽大豆 (品种: 吉农 38) 植株进行饲养, 15 d 更换一次新的寄主盆栽, 每养虫笼中饲养点蜂缘蝽 80-100 头。

供试药剂: 25% 噻虫嗪 WG 购自上海悦联化工有限公司, 生理盐水、总蛋白及过氧化物酶 POD、过氧化氢酶 CAT、总超氧化物歧化酶 SOD、乙酰胆碱酯酶 AChE、谷胱甘肽转移酶 GST 和羧酸酯酶 CarE 酶活测定试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

试验器材: 离心机 (赛洛捷克, D3024)、恒温水浴锅 (上海精宏实验设备有限公司, DK-S24)、人工气候箱 (宁波江南仪器厂, RXZ-430E; 中仪国科科技有限公司, PQX-H)、紫外分光光度计 (光谱仪器, SP-756P)、玻璃匀浆提取器 (1 和 2 mL)、离心管 (1.5、2、10 和 50 mL)、烧杯 (500 mL 和 2 L)、量筒 (100 mL)、培养皿 ($d = 6$ cm)、分析天平 (沈阳亮衡天平仪器有限公司, MODEL ES200-2B), 养虫笼 (碳纤维支架, 120 目尼龙网罩, $30\text{ cm} \times 30\text{ cm} \times 30\text{ cm}$) 和自制养虫罐 (亚格力透明材质, $d = 9$ cm, $h = 15$ cm) 等。

1.2 噻虫嗪对点蜂缘蝽 F_0 代 3 龄若虫的毒力测定

参照王自杰等 (2020) 方法, 将清水浸成的“肾型”大豆籽粒表面风干, 浸入用 25% 噻虫嗪 WG 溶于清水配制的不同浓度药液 (0.0、33.3、66.7、100.0、133.3 和 166.7 mg/L) 20 s, 取出豆粒在温度 (24 ± 1) $^{\circ}C$, 相对湿度为 $80\% \pm 5\%$, 光周期 16 L : 8 D 条件下, 饲喂点蜂缘蝽 3 龄若虫, 每浓度饲喂 10 头若虫, 4 次重复。24 h 后, 统计若虫死亡率, 由此得到噻虫嗪浓度与点蜂缘蝽 3 龄若虫死亡率之间的标准曲线 ($y = 1.31x + 6.71$)。根据该曲线, 确定本试验中噻虫嗪胁迫点蜂缘蝽亲代 (F_0 代) 3 龄若虫的不同浓度 (表 1)。

表 1 噻虫嗪对点蜂缘蝽 F_0 代 3 龄若虫的毒力测定
Table 1 Concentrations corresponding to different lethal concentrations of F_0 generation 3rd instar nymph of *Riptortus pedestris*

致死浓度指标 Lethal concentration index	药剂浓度 (mg/L) Reagent concentration (mg/L)
LC ₁₀	5.2
LC ₂₀	11.2
LC ₃₀	19.6
LC ₄₀	31.6
LC ₅₀	49.4

1.3 点蜂缘蝽 F_0 和 F_1 代种群的构建

采用浸渍法,将清水浸成的“肾型”大豆籽粒表面风干后,浸入噻虫嗪 LC₁₀、LC₂₀、LC₃₀、LC₄₀ 和 LC₅₀ 药液 20 s,自然晾干残留药液,以清水处理为对照 (CK)。将处理好的大豆籽粒移入自制的养虫罐中,每个养虫罐接入 10 头饥饿 24 h 的点蜂缘蝽 3 龄若虫,每个处理 3 次重复,每重复 10 头若虫。24 h 后,分别将各处理存活的点蜂缘蝽分为两部分:一部分用液氮速冻后,存于 -65 °C 冰箱备用,另一部分放入养虫笼中用清水浸成的“肾型”大豆种子继续饲养,每日更换新鲜食物,构建 F_0 代种群,饲养条件同 1.1 节。待 F_0 代种群中的个体发育至成虫 (3 日龄) 时,将其放入新的养虫罐进行配对饲养。待产卵后,每日收集卵粒,并放在铺有湿滤纸的培养皿中,置于人工气候箱中孵化,将初孵若虫放入养虫笼中用清水浸成的“肾型”大豆籽粒继续饲养,构建 F_1 代种群,饲养条件同 1.1 节。点蜂缘蝽 F_1 代若虫发育至 3 龄时,用液氮速冻, -65 °C 冰箱保存备用。

1.4 组织匀浆制备

羧酸酯酶组织匀浆制备:准确称取虫体重量,按照组织质量 (g):提取液 (mL) = 1:9 和适量石英砂加入匀浆提取器,冰水浴匀浆。匀浆液 12 000 g/min 离心 30 min,取上清液待测。

其他酶活测定时,组织匀浆的制备过程:准确称取虫体重量,按重量 (g):生理盐水体积 (mL) = 1:9 和适量石英砂加入匀浆提取器,

冰水浴匀浆。匀浆液 10 000 g/min 离心 10 min,取上清液;根据不同酶的标准曲线,将 10% 上清液用生理盐水稀释成不同浓度匀浆液,用于酶活性测定。

1.5 酶活性测定

总蛋白定量及保护酶 (SOD、POD 和 CAT) 和解毒酶 (GST、AChE 和 CarE) 的酶活性测定均参照酶活性检测试剂盒说明书进行,每个处理取 1 头 3 龄若虫,4 次重复。

1.6 数据分析

采用 DPS13.5 软件中单因素方差分析 Duncan 氏检验法,比较相同世代点蜂缘蝽 3 龄若虫的同种酶活性在不同浓度噻虫嗪处理间的差异显著性;使用 Spearman 相关性分析,分析 F_0 和 F_1 代酶活性与噻虫嗪浓度之间的相关性;利用两组平均数 Student *T* 检验比较不同世代间酶活性的变化。

2 结果与分析

2.1 不同浓度噻虫嗪对点蜂缘蝽 F_0 代 3 龄若虫保护酶和解毒酶活性的影响

点蜂缘蝽 F_0 代 3 龄若虫在取食不同浓度噻虫嗪浸渍的大豆籽粒后,体内 POD、CAT、SOD 和 GST 酶活性随噻虫嗪浓度的升高呈先上升后下降趋势 (图 1: A-C, E), AChE 酶活性呈先升高后下降再上升趋势 (图 1: D), CarE 酶活性整体呈升高趋势 (图 1: F)。POD 酶活性在噻虫嗪 LC₃₀ 处理最高 (4.662 7 U/mg), 其次为 LC₅₀ 处理 (4.247 7 U/mg), CK 处理最低 (2.771 3 U/mg); LC₁₀ 和 LC₂₀ 处理与 CK 无显著差异 ($P > 0.05$), 其他处理显著高于 CK ($P < 0.05$) (图 1: A)。CAT 酶活性在 LC₄₀ 处理最高 (45.505 0 U/mg), 其次为 LC₃₀ 处理 (42.735 9 U/mg), CK 处理最低 (29.107 9 U/mg); LC₁₀ 与 CK 处理无显著差异 ($P > 0.05$), 其他处理显著高于 CK ($P < 0.05$) (图 1: B)。SOD 酶活性在 LC₄₀ 处理最高 (73.474 1 U/mg), 其次为 LC₅₀ 处理 (72.428 6 U/mg), CK 处理最低

(67.692 6 U/mg) ; 所有处理之间无显著差异 ($P > 0.05$) (图 1: C)。AChE 酶活性在 LC₁₀ 处理最高 (0.066 1 U/mg), 其次为 LC₄₀ 处理 (0.062 6 U/mg), LC₂₀ 处理最低 (0.052 9 U/mg);

CK 处理为 0.058 0 U/mg, LC₂₀ 处理显著低于 CK ($P < 0.05$), LC₃₀、LC₄₀ 和 LC₅₀ 与 CK 处理无显著差异 ($P > 0.05$), LC₁₀ 处理显著高于 CK ($P < 0.05$) (图 1: D)。GST 酶活性在 LC₄₀ 处理最

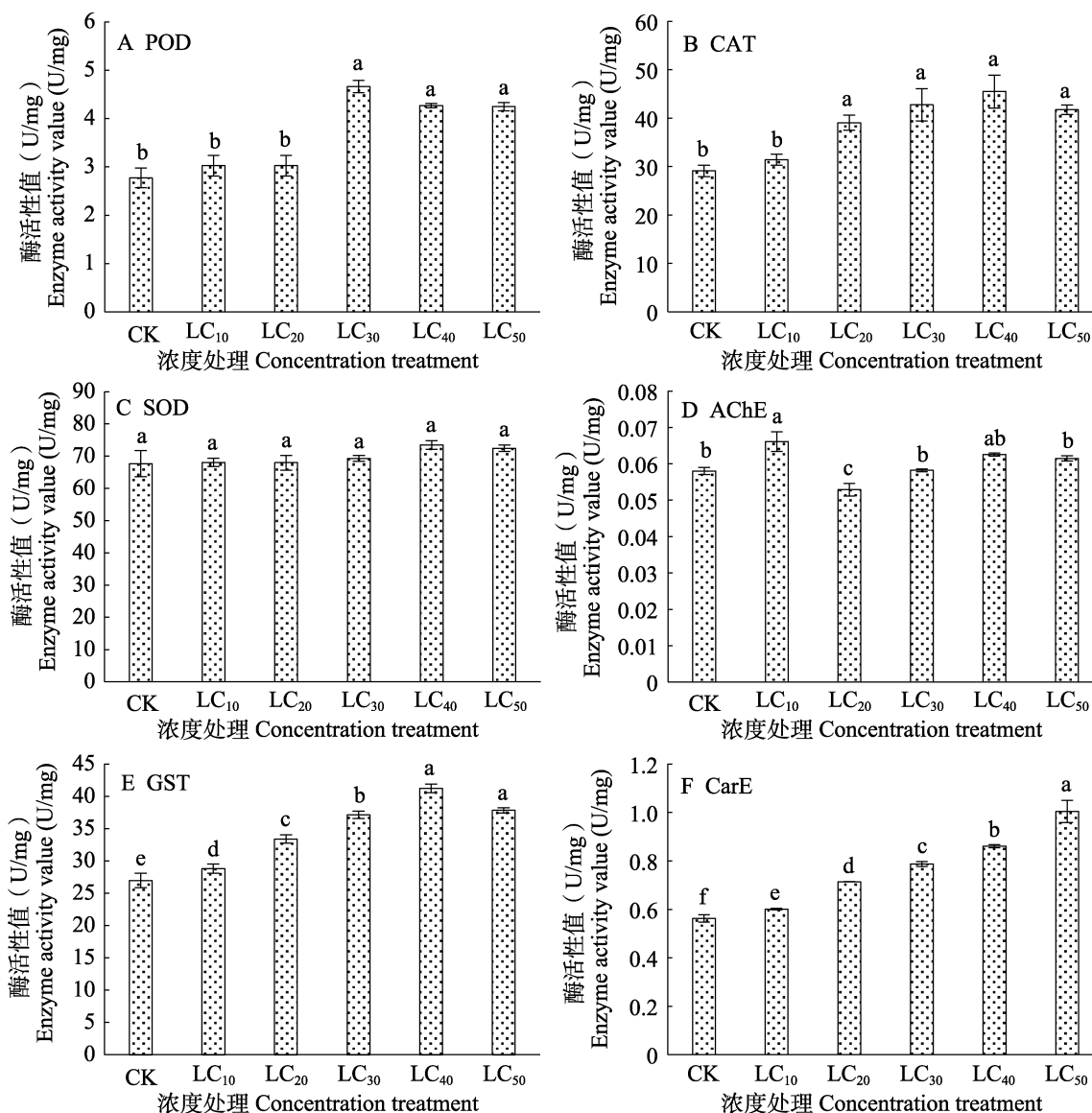


图 1 不同浓度噻虫嗪浸渍大豆籽粒喂食点蜂缘蝽 F₀ 代 3 龄若虫后, 对其体内保护酶和解毒酶活性的影响

Fig. 1 The effect of soaking soybean seeds with different concentrations of thiamethoxam on the activity of protective and detoxifying enzymes in F₀ generation 3rd instar nymphs of *Riptortus pedestris* after feeding

A. 过氧化物酶; B. 过氧化氢酶; C. 总超氧化物歧化酶; D. 乙酰胆碱酯酶; E. 谷胱甘肽转移酶; F. 羧酸酯酶。图中数值为平均值±标准误, 柱上不同小写字母表示不同处理之间经 Duncan 氏多重比较在 $P < 0.05$ 水平差异显著。

图 2 同。横坐标轴 CK = 清水对照; LC₁₀ = 5.2 mg/L; LC₂₀ = 11.2 mg/L; LC₃₀ = 19.6 mg/L; LC₄₀ = 31.6 mg/L; LC₅₀ = 49.4 mg/L。下图同。

A. POD; B. CAT; C. SOD; D. AChE; E. GST; F. CarE. Data in the figure are mean±SE, and different lowercase letters above bars indicate significant difference between different treatments at the $P < 0.05$ level by Duncan's multiple comparisons test. The same for Fig. 2. Abscissa axis CK = Clear water as the control; LC₁₀ = 5.2 mg/L; LC₂₀ = 11.2 mg/L; LC₃₀ = 19.6 mg/L; LC₄₀ = 31.6 mg/L; LC₅₀ = 49.4 mg/L. The same below.

高 (41.224 2 U/mg prot), 其次为 LC₅₀ 处理 (37.843 7 U/mg), CK 处理最低 (26.973 5 U/mg); 所有处理显著高于 CK ($P < 0.05$); LC₄₀ 与 LC₅₀ 处理差异不显著 ($P > 0.05$), 其他处理间差异显著 ($P < 0.05$) (图 1: E)。CarE 酶活性在 LC₅₀ 处理最高 (1.004 6 U/mg), 其次为 LC₄₀ 处理 (0.861 2 U/mg), CK 处理最低 (0.563 0 U/mg); 所有处理间均差异显著 ($P < 0.05$) (图 1: F)。这表明 AChE 主要参与点蜂缘蝽 F₀ 代 3 龄若虫对噻虫嗪 LC₁₀ 的解毒代谢, POD、CAT、SOD、

GST 和 CarE 不同程度上参与 F₀ 代若虫对不同浓度噻虫嗪的解毒代谢。

2.2 不同浓度噻虫嗪对点蜂缘蝽 F₁ 代 3 龄若虫保护酶和解毒酶活性的影响

随噻虫嗪浓度的升高, 点蜂缘蝽 F₁ 代 3 龄若虫体内 POD、AChE 和 GST 酶活性呈先升高后下降趋势 (图 2: A, D, E), CAT 和 SOD 酶活性呈先下降后升高趋势 (图 2: B, C), CarE 酶活性整体呈升高趋势 (图 2: F)。POD

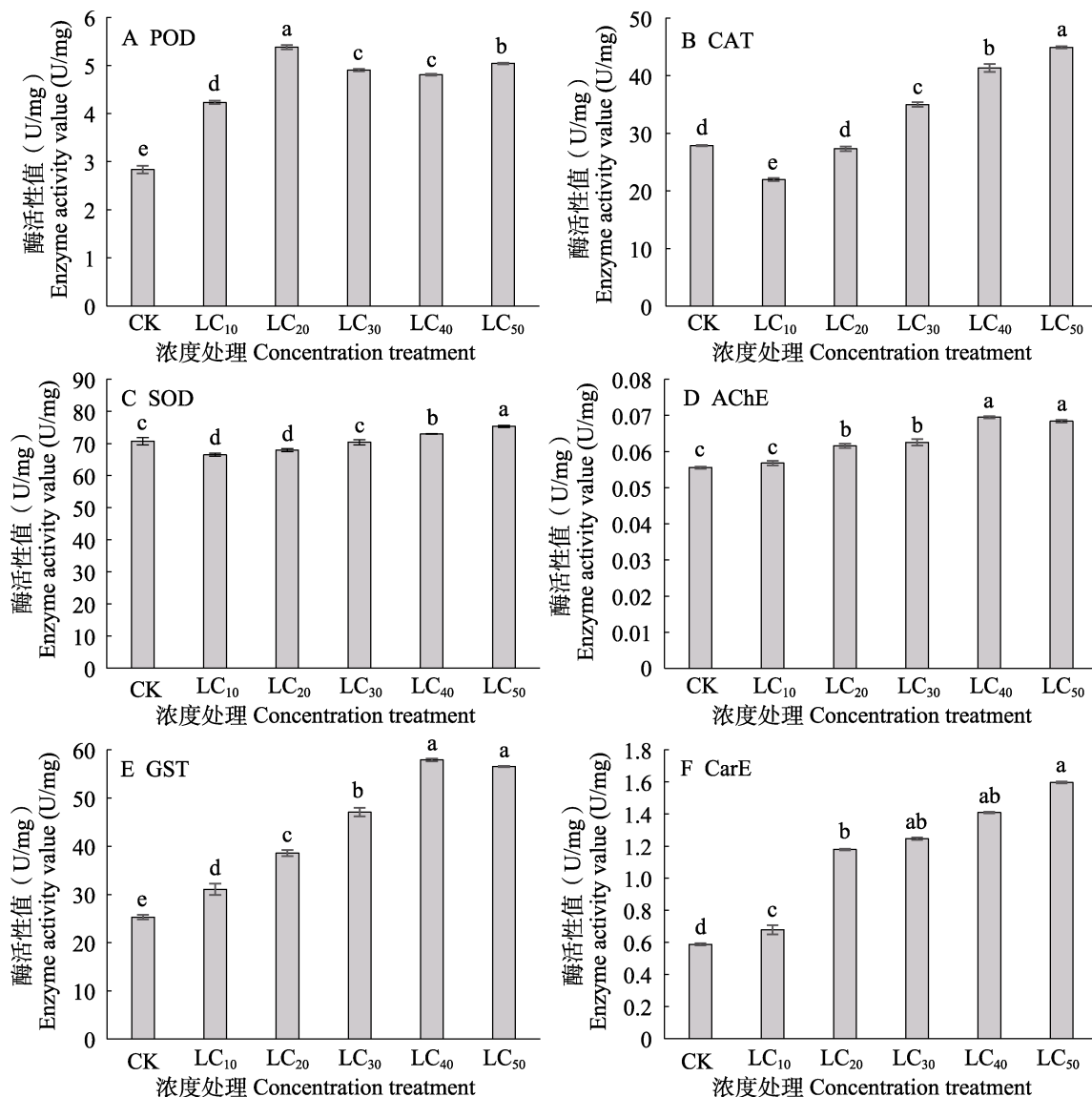


图2 不同浓度噻虫嗪浸渍大豆籽粒喂食点蜂缘蝽 F₀ 代 3 龄若虫后, 对其 F₁ 代 3 龄若虫体内保护酶和解毒酶活性的影响

Fig. 2 The effect of the activity of protective enzymes and detoxifying enzymes in the bodies of F₁ generation 3rd instar nymphs of *Riptortus pedestris* after feeding soybean seeds soaked with different concentrations of thiamethoxam to F₀ generation 3rd instar nymphs

酶活性在 LC_{20} 处理最高 (5.380 5 U/mg), 其次为 LC_{50} 处理 (5.040 5 U/mg), CK 处理最低 (2.835 7 U/mg); 所有处理显著高于 CK ($P < 0.05$); LC_{30} 与 LC_{40} 处理无显著差异 ($P > 0.05$), 其他处理间均差异显著 ($P < 0.05$) (图 2: A)。CAT 酶活性在 LC_{50} 处理最高 (44.927 5 U/mg), 其次为 LC_{40} 处理 (41.332 1 U/mg), LC_{10} 处理最低 (21.977 1 U/mg); CK 处理为 27.885 2 U/mg, LC_{10} 处理显著低于 CK ($P < 0.05$), LC_{20} 与 CK 处理无显著差异 ($P > 0.05$), 其他处理显著高于 CK ($P < 0.05$) (图 2: B)。SOD 酶活性在 LC_{50} 处理最高 (75.332 0 U/mg), LC_{10} 处理最低 (66.469 5 U/mg); 只有 LC_{40} (72.956 9 U/mg) 和 LC_{50} 处理 (75.332 0 U/mg) 高于 CK (70.716 9 U/mg), LC_{10} 和 LC_{20} 处理显著低于 CK ($P < 0.05$), LC_{30} 与 CK 处理无显著差异 ($P > 0.05$), LC_{40} 和 LC_{50} 处理显著高于 CK ($P < 0.05$) (图 2: C)。AChE 酶活性在 LC_{40} 处理最高 (0.069 5 U/mg), 其次为 LC_{50} 处理 (0.068 4 U/mg), CK 处理最低 (0.055 5 U/mg); LC_{10} 与 CK 处理无显著差异 ($P > 0.05$), 其他处理均显著高于 CK ($P < 0.05$) (图 2: D)。GST 酶活性在 LC_{40} 处理最高 (57.918 2 U/mg), 其次为 LC_{50} 处理 (56.564 0 U/mg), CK 处理最低 (25.290 6 U/mg); 所有处理显著高于 CK ($P < 0.05$); LC_{40} 与 LC_{50} 处理无显著差异 ($P > 0.05$), 其他处理间均差异显著 ($P < 0.05$) (图 2: E)。CarE 酶活性在 LC_{50} 处理最高 (1.596 5 U/mg), 其次为 LC_{40} 处理 (1.409 3 U/mg), CK 处理最低 (0.587 0 U/mg); 所有处理显著高于 CK ($P < 0.05$) (图 2: F)。这表明 SOD 参与点蜂缘蝽 F_1 代 3 龄若虫对噻虫嗪 LC_{50} 的解毒代谢, CAT 在噻虫嗪中、高浓度的解毒中发挥作用, POD、AChE、GST 和 CarE 参与 F_1 代若虫对不同浓度噻虫嗪的解毒代谢。

2.3 不同浓度噻虫嗪对点蜂缘蝽 F_0 和 F_1 代 3 龄若虫保护酶和解毒酶活性影响的比较

不同浓度噻虫嗪胁迫后, 对 F_0 和 F_1 代点蜂缘蝽 3 龄若虫保护酶和解毒酶的活性进行比较 (图 3)。结果表明, 除 CK 和 LC_{30} 处理, F_0 与

F_1 代 3 龄若虫的 POD 酶活性无显著差异 ($P > 0.05$), 其他浓度处理下, F_1 代若虫的 POD 酶活性显著高于 F_0 代 ($P < 0.05$) (图 3: A)。在 LC_{10} 、 LC_{20} 和 LC_{30} 处理下, F_1 代若虫的 CAT 酶活性显著低于 F_0 代 ($P < 0.05$); CK 和 LC_{40} 处理下, F_0 与 F_1 代若虫的 CAT 酶活性差异不显著 ($P > 0.05$); LC_{50} 处理下, F_1 代若虫的 CAT 酶活性显著高于 F_0 代 ($P < 0.05$) (图 3: B)。 LC_{50} 处理下, F_1 代若虫的 SOD 酶活性显著高于 F_0 代 ($P < 0.05$), 其他浓度处理下 F_0 与 F_1 代若虫的 SOD 酶活性无显著差异 ($P > 0.05$) (图 3: C)。 F_1 代若虫的 AChE 酶活性在 LC_{10} 处理下显著低于 F_0 代 ($P < 0.05$); CK 处理中 F_0 与 F_1 代若虫的 AChE 酶活性无显著差异 ($P > 0.05$); 其他浓度处理下 F_1 代若虫的 AChE 酶活性显著高于 F_0 代 ($P < 0.05$) (图 3: D)。除 CK 和 LC_{10} 处理, 其他浓度处理下 F_1 代若虫的 GST 酶活性显著高于 F_0 代 ($P < 0.05$) (图 3: E)。 F_1 代若虫的 CarE 酶活性在 LC_{10} 处理下显著低于 F_0 代 ($P < 0.05$); CK 处理下 F_0 与 F_1 代的 CarE 酶活性差异不显著 ($P > 0.05$); 其他浓度处理 F_1 代均显著高于 F_0 代 ($P < 0.05$) (图 3: F)。这表明 CAT 和 SOD 是点蜂缘蝽 F_1 代若虫对噻虫嗪 LC_{50} 产生抗药性的关键酶, POD、AChE、GST 和 CarE 是 F_1 代若虫对噻虫嗪所有试验浓度产生抗药性的关键酶。

2.4 不同浓度噻虫嗪与点蜂缘蝽 F_0 和 F_1 代 3 龄若虫体内酶活变化的相关性

点蜂缘蝽 F_0 代 3 龄若虫取食不同浓度噻虫嗪浸渍的大豆籽粒后, 对噻虫嗪浓度与点蜂缘蝽 F_0 和 F_1 代若虫体内酶活的变化进行相关性分析 (表 2)。结果表明, F_0 和 F_1 代若虫体内的保护酶和解毒酶活性均与药剂浓度呈正相关。其中, F_0 代若虫的 CAT、POD 和 GST 酶活性与噻虫嗪浓度显著正相关, 相关系数分别为 0.76、0.76 和 0.82 ($P < 0.05$), SOD 和 CarE 酶活性与药剂浓度极显著正相关, 相关系数分别为 0.88 和 0.99 ($P < 0.01$); F_1 代若虫的 SOD 酶活性与药剂浓度显著正相关, 相关系数为 0.84 ($P < 0.05$),

POD、AChE、GST 和 CarE 酶活性与药剂浓度极显著正相关, 相关系数分别为 0.93、0.92、0.92 和 0.92 ($P < 0.01$)。这表明在噻虫嗪试验浓度范围内, 浓度的升高促进了点蜂缘蝽 F_0 代若虫体

内保护酶和解毒酶活性的增加, 并且具有继代传递效应, F_1 代若虫体内保护酶和解毒酶的活性变化趋势与 F_0 代相似, 其中 POD、AChE 和 GST 酶活性表现为继代强化效应。

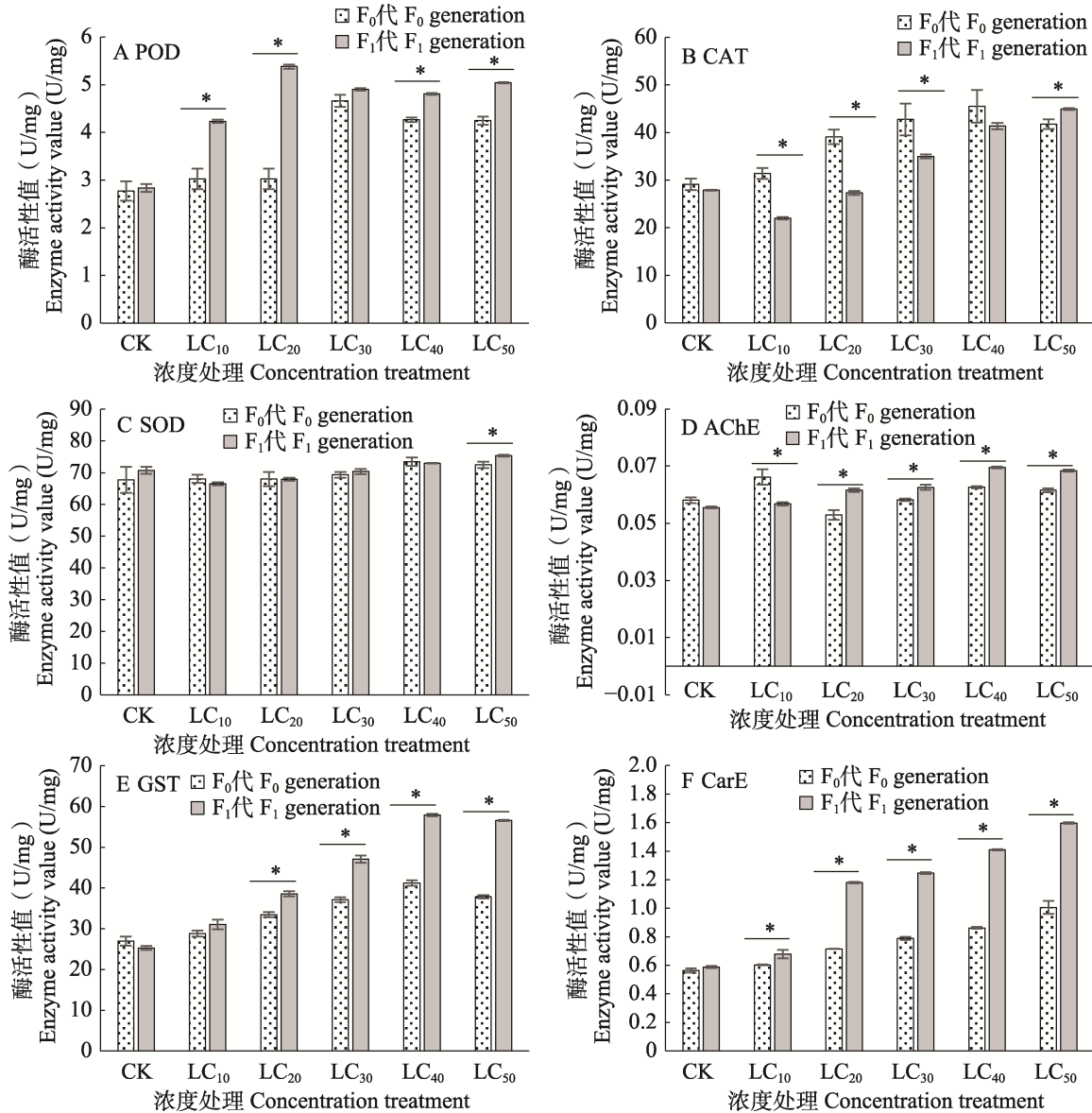


图3 不同浓度噻虫嗪对点蜂缘蝽 F_0 和 F_1 代 3 龄若虫保护酶和解毒酶活性影响的比较

Fig. 3 Difference analysis of enzyme activity in F_0 and F_1 nymphs treated with the soybean seeds dipped with different concentrations of thiamethoxam

A. 过氧化物酶; B. 过氧化氢酶; C. 总超氧化物歧化酶; D. 乙酰胆碱酯酶; E. 谷胱甘肽转移酶; F. 羧酸酯酶。图中数值为均值±标准误。*表示不同浓度噻虫嗪浸渍大豆种子喂食点蜂缘蝽 F_0 代若虫后, 其 F_0 代与 F_1 代体内酶活值在平均数 Student T 检验中 $P < 0.05$ 水平差异显著。

A. POD; B. CAT; C. SOD; D. AChE; E. GST; F. CarE. Data in the figure are mean±SE. * indicates significant difference in the mean between the F_0 and F_1 generations after F_0 nymphs fed with the soybean seeds dipped in different concentrations of thiamethoxam at the $P < 0.05$ level by Student T test.

表 2 不同浓度噻虫嗪与点蜂缘蝽 F₀ 和 F₁ 代 3 龄若虫体内酶活变化的相关性
Table 2 The correlation between thiamethoxam concentration treatments and the changes of enzyme activity in F₀ and F₁ nymphs of *Riptortus pedestris*

	F ₀ 代 F ₀ generation						F ₁ 代 F ₁ generation					
	过氧化 物酶 CAT	过氧化 氢酶 POD	总超氧 化物歧 化酶 SOD	乙酰胆 碱酯酶 AChE	谷胱甘 肽转 移酶 GST	羧酸 酯酶 CarE	过氧化 物酶 CAT	过氧化 氢酶 POD	总超氧 化物歧 化酶 SOD	乙酰胆 碱酯酶 AChE	谷胱甘 肽转 移酶 GST	羧酸 酯酶 CarE
噻虫嗪浓度 Thiamethoxam concentration	0.76*	0.76*	0.88**	0.20	0.82*	0.99**	0.58	0.93**	0.84*	0.92**	0.92**	0.92**

在多元分析中选择相关分析选项, 分析 F₀ 和 F₁ 代酶活性与噻虫嗪浓度之间的相关性。*表示相关性在 Spearman 相关性分析 $P < 0.05$ 水平差异显著, **表示 Spearman 相关性分析在 $P < 0.01$ 水平差异极显著。
Select the correlation analysis option in the multivariate analysis to analyse the correlation between F₀ and F₁ enzyme activity and thiamethoxam concentration. * indicates significant difference in Spearman correlation analysis at the $P < 0.05$ level, ** indicate extremely significant difference in Spearman correlation analysis at the $P < 0.01$ level.

3 讨论

在不同浓度噻虫嗪的胁迫下, 对点蜂缘蝽 F₀ 代 3 龄若虫保护酶和解毒酶的活性进行分析发现, POD、CAT 和 SOD 酶活性随药剂浓度的升高先上升后下降, 试验结果与陈章铭 (2019) 用亚致死浓度甲氧虫酰肼胁迫长足大竹象 *Cyrtotrachelus buqueti* 幼虫 3 d 后, 幼虫的 POD 酶活性变化趋势相同; 与马新耀 (2017) 用艾蒿精油亚致死浓度胁迫朱砂叶螨 *Tetranychus cinnabarinus* 亲代雌成螨 24 h 后, 其体内 CAT 酶活性的变化相似; 与贾变桃等 (2016) 用虱螨脲亚致死浓度处理小菜蛾 *Plutalla xylostella* 3 龄幼虫 12 h 后, 幼虫体内的 SOD 酶活性变化趋势一致。同时, 点蜂缘蝽 F₀ 代若虫的 AChE 酶活性呈先上升后下降再升高的趋势, GST 酶活性先升高后下降, 而 CarE 酶活性整体呈升高趋势。这与袁家瑜等 (2020) 使用噻虫嗪亚致死浓度胁迫月季长管蚜 *Macrosiphu rosuomm* 12 和 24 h 后, 其体内 AChE 酶活性的变化趋势一致; 与程作慧等 (2021) 用香茅精油微乳液对朱砂叶螨胁迫 12 h 后, 其体内 GST 酶活性的变化趋势相同; 与袁家瑜等 (2020) 用噻虫嗪亚致死浓度对月季长管蚜胁迫 24 h 后, 其体内 CarE 酶活性的变化趋势相同。此外, 本研究分析了 F₀ 代 3 龄若虫取食不同浓度噻虫嗪浸渍的大豆种子后, F₁ 代 3

龄若虫体内保护酶和解毒酶活性的变化趋势。随噻虫嗪浓度的升高, F₁ 代若虫的 CAT 和 SOD 酶活性表现出先下降后上升的趋势, POD、AChE 和 GST 酶活性则先上升后下降, CarE 酶活性整体呈上升趋势。这表明在不同浓度噻虫嗪处理下, F₀ 代若虫的保护酶 POD 和 CAT 通过提高活性参与抵御中、高浓度噻虫嗪胁迫, F₁ 代若虫的 POD 和 CAT 抵御不同浓度噻虫嗪的胁迫, SOD 通过提高活性只参与了 F₀ 代若虫对不同浓度噻虫嗪的解毒代谢。解毒酶中 GST 和 CarE 通过提高活性参与了 F₀ 和 F₁ 代若虫对不同浓度噻虫嗪的解毒代谢, AChE 通过提高活性只参与了 F₀ 代若虫对不同浓度噻虫嗪的解毒代谢。

在不同浓度噻虫嗪胁迫下, F₀ 与 F₁ 代点蜂缘蝽 3 龄若虫的酶活性对比结果表明, F₁ 代若虫的 POD 酶活性在中、高浓度噻虫嗪处理下、CAT 和 SOD 酶活性在噻虫嗪 LC₅₀ 处理下, 以及 AChE、GST 和 CarE 酶活性在不同浓度噻虫嗪处理下显著高于 F₀ 代, 这表明点蜂缘蝽子代若虫 (F₁ 代) 通过提高活性保护酶 POD 和解毒酶 AChE、GST 及 CarE 对噻虫嗪产生抗药性。

本研究在室内条件下, 通过饲喂点蜂缘蝽 F₀ 代 3 龄若虫毒饵, 成功建立了子代 (F₁ 代) 种群, 并测定了 F₀ 和 F₁ 代若虫体内酶活的变化。但在实际生产过程中, 还需考虑施药方式及温度、湿度、光照和降雨等环境因素的影响。下一步研究应模拟点蜂缘蝽在自然条件下接触药剂

的方式, 设置药剂处理的时间梯度, 更精确地评估不同浓度噻虫嗪对点蜂缘蝽亲代和后代体内酶活影响的动态变化, 为深入理解点蜂缘蝽对噻虫嗪产生抗药性的机制提供理论依据。

参考文献 (References)

- Ahmad S, Pardini RS, 1990. Antioxidant defense of the cabbage looper, *Trichoplusia ni*: Enzymatic responses to the superoxide-generating flavonoid, quercetin, and photodynamic furanocoumarin, xanthotoxin. *Photochemistry and Photobiology*, 51(3): 305–311.
- Boina DR, Onagbola EO, Salyani M, Stelinski LL, 2009. Antifeedant and sublethal effects of imidacloprid on Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*. *Pest Management Science*, 65(8): 870–877.
- Chen JH, Bi R, Huang JM, Cui J, Shi SS, 2018. Analysis on the different effects of different stinkbugs infestations on growth and yield of soybean. *Soybean Science*, 37(4): 585–589. [陈菊红, 毕锐, 黄佳敏, 崔娟, 史树森, 2018. 不同蝽类为害对大豆生长发育及产量影响的差异性分析. 大豆科学, 37(4): 585–589.]
- Chen JM, Yu XP, Lü ZX, Tao LY, Zheng XS, Xu HX, Cheng JA, 2002. Changes of protective enzymes and hydroxylamine in body of the whitebacked planthopper (WBPH), *Sogatella furcifera* Horvath, feeding on resistant rice varieties. *Entomological Journal of East China*, 11(2): 41–45. [陈建明, 俞晓平, 吕仲贤, 陶林勇, 郑许松, 徐红星, 程家安, 2002. 白背飞虱取食抗虫品种过程中体内保护酶和自由基的变化. 华东昆虫学报, 11(2): 41–45.]
- Chen ZM, 2019. Effect of six insect growth regulators on detoxifying and protective enzymes in *Cyrtotrachelus buqueti*. Master dissertation. Ya'an: Sichuan Agricultural University. [陈章铭, 2019. 六种昆虫生长调节剂对长足大竹象解毒酶和保护酶的影响. 硕士学位论文. 雅安: 四川农业大学.]
- Cheng ZH, Fan FF, Wang Q, Liu Q, Zhang P, Li R, Li SC, 2021. Bioactivities of citronella oil microemulsion against *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae) and its effect on the detoxification enzyme activities. *Journal of Plant Protection*, 48(4): 914–920. [程作慧, 樊芳芳, 王旗, 刘庆, 张鹏, 李锐, 李生才, 2021. 香茅精油微乳液对朱砂叶螨的生物活性及其解毒酶系活性的影响. 植物保护学报, 48(4): 914–920.]
- Fan YP, Dang HY, Wang HM, Zheng HX, Cheng XF, Zhang YW, Zhang XH, 2020. Effects of mung bean trypsin inhibitor on the growth and development and the activities of detoxifying and protective enzymes in *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae). *Acta Entomologica Sinica*, 63(12): 1473–1481. [樊艳平, 党海燕, 王宏民, 郑海霞, 成小芳, 张耀文, 张仙红, 2020. 绿豆胰蛋白酶抑制剂对绿豆象生长发育及体内解毒酶和保护酶活性的影响. 昆虫学报, 63(12): 1473–1481.]
- Fan ZF, Song JL, Gui FR, He SQ, 2021. Effect of five insecticides on toxicity and physiological enzyme activities of *Frankliniella occidentalis* and *F. intonsa*. *Journal of Biosafety*, 30(3): 206–212. [樊宗芳, 宋洁蕾, 桂富荣, 和淑琪, 2021. 5种杀虫剂对西花蓟马和花蓟马的毒力及其生理酶活性的影响. 生物安全学报, 30(3): 206–212.]
- Fu SY, Duan YJ, Wang SQ, Ren YP, Bu WJ, 2021. Comparative transcriptomic analysis of *Riptortus pedestris* (Hemiptera: Alydidae) to characterize wing formation across all developmental stages. *Insects*, 12(3): 226.
- Gao Y, Chen JH, Shi SS, 2019. Research progress on soybean stink bug (*Riptortus pedestris*). *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 41(5): 804–815. [高宇, 陈菊红, 史树森, 2019. 大豆害虫点蜂缘蝽研究进展. 中国油料作物学报, 41(5): 804–815.]
- Gao Y, Shi SS, 2019. The relationship between staygreen syndrome in soybean and stink bugs and preventive strategy. *Soybean Science*, 38(4): 650–655. [高宇, 史树森, 2019. 大豆“莢而不实”型“症青”与蝽类害虫为害的相关性及防控策略. 大豆科学, 38(4): 650–655.]
- Gao Y, Shi SS, Xu ML, Cui J, 2018. Current research on soybean pest management in China. *Oil Crop Science*, 3(4): 215–227.
- Han WS, Wang LH, Sun HH, Gao XW, 2011. Research progress on sublethal effects of insecticides on insect. *China Plant Protection*, 31(11): 15–20. [韩文素, 王丽红, 孙姗姗, 高希武, 2021. 杀虫剂对昆虫的亚致死效应的研究进展. 中国植保导刊, 31(11): 15–20.]
- Hu ZZ, Shi Y, Li YH, Xue JG, Wang WB, Qian HT, Xing GN, Gai JY, 2020. Study on the trapping effect of different aggregation pheromone lure cores and trap devices against *Riptortus pedestris* in soybean field. *Soybean Science*, 39(2): 288–296. [胡壮壮, 师毅, 李拥虎, 薛建光, 王吴彬, 钱海涛, 邢光南, 盖钧镒, 2020. 不同聚集信息素诱芯及诱捕器对大豆田间点蜂缘蝽诱捕效果研究. 大豆科学, 39(2): 288–296.]
- Huang HJ, Yan XT, Wei ZY, Wang YZ, Chen JP, Li JM, Sun ZT, Zhang CX, 2021. Identification of *Riptortus pedestris* salivary proteins and their roles in inducing plant defenses. *Biology*, 10(8): 753.
- Jia BT, Jiao P, Yang SM, 2016. Effects of sublethal concentrations of lufenuron on endogenous protective and detoxifying enzymes in the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.). *Journal of Plant Protection*, 43(2): 293–299. [贾变桃, 焦鹏, 杨素梅, 2016. 虱螨脲亚致死浓度对小菜蛾保护酶系和解毒酶系活力的影响. 植物保护学报, 43(2): 293–299.]
- Kim S, Lim UT, 2010. New soybean variety, Agakong, as a host of

- Riptortus pedestris* (Fabricius): Study on field occurrence and biological attributes in the laboratory. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 13(4): 261–265.
- Li K, Zhang XX, Guo JQ, Penn H, Wu TT, Li L, Jiang H, Chang LD, Wu CX, Han TF, 2019. Feeding of *Riptortus pedestris* on soybean plants, the primary cause of soybean staygreen syndrome in the Huang-Huai-Hai River Basin. *The Crop Journal*, 7(3): 360–367.
- Li WJ, Chen JH, Mi QQ, Zhuo FY, Zhong YZ, Dou SH, Zhang F, Shi SS, Zhang JP, 2021. Study on the biocontrol potential of *Anastatus japonicus* Ashmead (Hymenoptera: Eupelmidae) against *Riptortus pedestris* (Fabricius) (Hemiptera: Alydidae). *China Plant Protection*, 41(7): 26–31. [李文敬, 陈菊红, 米倩倩, 卓富彦, 钟永志, 豆少辉, 张峰, 史树森, 张金平, 2021. 日本平腹小蜂对点蜂缘蝽的控害潜能研究. 中国植保导刊, 41(7): 26–31.]
- Ma XY, 2017. Bioactivity and change of protective enzyme of six plants extractives against *Tetranychus cinnabarinus* Boisduval (Acari: Tetranychidae). Master dissertation. Jinzhong: Shanxi Agricultural University. [马新耀, 2017. 6种植物提取物对朱砂叶螨的生物活性及其保护酶的影响. 硕士论文学位. 晋中: 山西农业大学.]
- Wada T, Endo N, Takahashi M, 2006. Reducing seed damage by soybean bugs by growing small-seeded soybeans and delaying sowing time. *Crop Protection*, 25(8): 726–731.
- Wang MM, Zhang YJ, Cui GY, Ji Y, Zhang YJ, He L, 2023. Effects of tea saponin on the detoxification and protective enzyme activity of *Locusta migratoria*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 60(5): 1412–1422. [王铭铭, 张勇娟, 崔国盈, 季荣, 张永军, 何岚, 2023. 茶皂素对飞蝗解毒酶与保护酶活性的影响. 应用昆虫学报, 60(5): 1412–1422.]
- Wang ZJ, Tian XY, Li WB, Gao Y, Shi SS, 2020. Indoor biological activity and field effect of 5 kinds of insecticides to *Riptortus pedestris*. *Agrochemicals*, 59(7): 537–540. [王自杰, 田鑫月, 李文博, 高宇, 史树森, 2020. 5种药剂对点蜂缘蝽室内生物活性及田间防效. 农药, 59(7): 537–540.]
- Xiao JH, Wei L, Liu B, Duan XY, Yang HF, 2020. Analysis on the cause of “Greenness Symptoms” phenomenon of summer soybean in southern Shanxi. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 48(8): 1305–1308, 1312. [肖俊红, 卫玲, 刘博, 段学艳, 杨海峰, 2020. 晋南夏大豆“症青”现象发生原因分析. 山西农业科学, 48(8): 1305–1308, 1312.]
- Yao L, 2020. Current situation and development trend of China’s soybean industry under Sino-US trade friction. *China Oils and Fats*, 45(2): 10–14. [姚林, 2020. 中美贸易摩擦下的中国大豆产业现状与发展趋势. 中国油脂, 45(2): 10–14.]
- Yin J, Feng HL, Li KB, Cao YZ, 2012. Effects of host plants on the activities of some detoxification enzymes and protective enzymes in the meadow moth. *Plant Protection*, 38(1): 35–39. [尹姣, 冯红林, 李克斌, 曹雅忠, 2012. 寄主植物对草地螟中肠解毒酶及保护性酶活性的影响. 植物保护, 38(1): 35–39.]
- Youn HS, Jung C, 2008. Effect of trap cropping on the egg parasitism of *Riptortus clavatus* (Thunberg) in soybean fields. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 11(2): 73–76.
- Yuan JY, Yang H, He HG, 2020. Effects of sublethal doses of thiamethoxazide on detoxifying enzymes of *Macrosiphu rosuomm* Zhang. *Agrochemicals*, 59(3): 184–187. [袁家瑜, 杨慧, 何恒果, 2020. 噻虫嗪亚致死剂量对月季长管蚜解毒酶活性的影响. 农药, 59(3): 184–187.]
- Zhang YJ, Wang GF, Wu QJ, Xu BY, Bai LY, Zhu GR, Zhang WJ, 2003. The toxicity of spinosad to beet armyworm and its effect on endogenous enzymes of protective system. *Chinese Journal of Pesticides Science*, 5(3): 31–38. [张友军, 王光锋, 吴青君, 徐宝云, 柏连阳, 朱国仁, 张文吉, 2003. 多杀菌素不同发育阶段甜菜夜蛾的毒力及其体内超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和过氧化物酶的影响. 农药学报, 5(3): 31–38.]