

五种生物农药对二化螟的毒力 及消化酶活性的影响*

邓璇璇^{1,2,3**} 何勇^{1,2} 方宝华^{1,4} 匡炜^{1,4***} 张亚² 刘双清^{2,4***}

(1. 湖南杂交水稻研究中心, 杂交水稻国家重点实验室, 长沙 410125; 2. 湖南农业大学植物保护学院, 长沙 410128;
3. 怀化市麻阳苗族自治县农业农村局, 怀化 419400; 4. 岳麓山实验室, 长沙 410128)

摘要 【目的】明确5种生物农药对二化螟 *Chilo suppressalis* 致死效应的生理生化机制。【方法】本研究采用饲料混药法, 测定了金龟子绿僵菌 CQMa421、球孢白僵菌 ZJU435、苏云金芽孢杆菌、乙基多杀菌素和阿维菌素5种生物农药对二化螟3龄幼虫的校正死亡率; 经过药剂筛选, 选择防效最佳的药剂对1~4龄幼虫进行毒力测定, 并将药剂以 LC_{50} 的浓度处理3龄幼虫, 探究了二化螟幼虫体内的总蛋白含量以及 α -淀粉酶、蔗糖酶、海藻糖酶、胰蛋白酶、脂肪酶活性的动态变化。【结果】在推荐剂量下, 阿维菌素的毒力最强, 处理4d后的校正死亡率为97.78%, 显著高于其他药剂 ($P < 0.05$); 且1龄幼虫对阿维菌素最敏感, LC_{50} 随龄期增加而升高。经阿维菌素 (LC_{50}) 处理后, 可显著抑制幼虫蛋白质含量 ($P < 0.05$), 同时诱导 α -淀粉酶、蔗糖酶、海藻糖酶、胰蛋白酶和脂肪酶这5种消化酶活性的显著升高 ($P < 0.05$)。【结论】阿维菌素对二化螟低龄幼虫具有很高的杀虫活性, 以 LC_{50} 浓度处理后, 幼虫体内的消化酶活性升高, 导致其营养代谢失衡。该研究结果为阐明阿维菌素对二化螟的毒理机制提供了理论基础。

关键词 二化螟; 生物农药; 毒力; 消化酶

Effect of five bio-pesticides on the virulence and digestive enzyme activity of *Chilo suppressalis*

DENG Xuan-Xuan^{1,2,3**} HE Yong^{1,2} FANG Bao-Hua^{1,4} KUANG Wei^{1,4***}
ZHANG Ya² LIU Shuang-Qing^{2,4***}

(1. State Key Laboratory of Hybrid Rice, Hunan Hybrid Rice Research Center, Changsha 410125, China; 2. College of Plant Protection, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 3. Bureau of Agricultural and Rural Affairs of Mayang Miao Autonomous County, Huaihua 419400, China; 4. Yuelushan Laboratory, Changsha 410128, China)

Abstract [Aim] To clarify the physiological and biochemical mechanisms responsible for the lethal effects of five biological pesticides on the rice stem borer, *Chilo suppressalis*. [Methods] Corrected mortality rates of third instar *C. suppressalis* larvae after treatment with five biological pesticides, namely *Metarhizium anisopliae* CQMa421, *Beauveria bassiana* ZJU435, *Bacillus thuringiensis*, spinetoram and avermectin, were determined using the diet incorporation method. The toxicity of the most effective pesticide to different larval instars was then measured. Third instar larvae were treated with the LC_{50} concentration of the pesticide, and dynamic changes in their total protein content, and in the activity of the digestive enzymes α -amylase, sucrase, trehalase, trypsin and lipase, were investigated. [Results] Avermectin had the strongest toxicity at the recommended dosage, with a corrected mortality rate of 97.78% after 4 days. This was significantly higher than that of other pesticides ($P < 0.05$). Moreover, first instar larvae were the most sensitive to abamectin; LC_{50} increased with successive larval instars. Treatment with abamectin (LC_{50}) significantly reduced the protein content of larvae ($P < 0.05$), and simultaneously abnormally elevated the activity of all five digestive enzymes monitored ($P < 0.05$). [Conclusion] Avermectin

*资助项目 Supported projects: 湖南创新型省份建设专项 (2023NK2016); 国家重点研发计划课题 (2021YFD1401104)

**第一作者 First author, E-mail: 3103601483@qq.com

***共同通讯作者 Co-corresponding authors, E-mail: kuangwei@hunaas.cn; liushuangqing@hunau.edu.cn

收稿日期 Received: 2025-06-16; 接受日期 Accepted: 2025-08-16

is highly toxic to young *C. suppressalis* larvae. Treatment with the LC₅₀ concentration of avermectin elevates the digestive enzyme activity of larvae leading to a nutritional, metabolic imbalance. These results clarify the toxicological mechanism underlying the effects of avermectin on *C. suppressalis*.

Key words *Chilo suppressalis*; bio-pesticide; virulence; digestive enzyme

二化螟 *Chilo suppressalis* 属鳞翅目螟蛾科, 是水稻生产中的重要钻蛀性害虫, 严重时可致水稻大幅减产甚至绝收 (叶恭银等, 2023; 赫思聪等, 2024; Wang *et al.*, 2024)。近年来受水稻栽培模式变化、早稻移栽提前、杂交稻规模化种植、秸秆禁烧及气候变化等因素影响, 二化螟为害日益加剧。化学农药虽在防治中占重要地位, 但长期大量使用导致二化螟抗药性增强, 还引发农业污染、生物多样性下降及食品安全等问题 (官道杰等, 2024), 因此, 研发绿色防控技术成为当前研究重点。而生物农药对生态环境和非靶标生物影响较小, 且能延缓害虫抗药性 (朱秀苗等, 2024), 包括金龟子绿僵菌、球孢白僵菌、苏云金芽孢杆菌、乙基多杀菌素和阿维菌素等, 凭借独特作用机制展现出防控潜力 (邓竣丹等, 2021), 例如绿僵菌和白僵菌通过孢子侵入害虫表皮并分泌毒素破坏代谢 (卓富彦等, 2024), 苏云金芽孢杆菌以 Cry 毒素蛋白作用于肠道细胞引发消化紊乱 (金嘉凤等, 2024), 乙基多杀菌素和阿维菌素则干扰神经传导导致害虫麻痹死亡 (文莹和张立新 2018; 何超等, 2021), 这些特性使其能部分替代传统化学农药, 支撑农业可持续绿色发展。

消化酶系统在昆虫生理机能中至关重要, 是保障昆虫正常生长发育和维持代谢功能稳定的关键, 其活性高低决定了昆虫对营养物质的消化吸收能力, 在昆虫消化吸收各类营养物质的过程中发挥着不可或缺的作用 (柴艳萍等, 2016; Mohammadzadeh *et al.*, 2023; Bonvari *et al.*, 2024; Zhong *et al.*, 2025)。在昆虫的肠道系统中, 消化酶的种类丰富, 包括淀粉酶、脂肪酶、蔗糖酶、海藻糖酶和胰蛋白酶等几种比较重要的消化酶。淀粉酶 (Amylase, AMS) 能够水解淀粉和糖原, 参与昆虫的能量代谢, 为机体的生长发育提供糖类 (Huang *et al.*, 2021); 脂肪酶 (Lipase, LPS) 能催化脂肪酸酯键水解 (如将甘

油三酯水解为甘油和脂肪酸), 不仅调控脂类物质的消化与吸收, 还参与蜕皮、滞育、信息素合成等重要生理过程 (鲁智慧等, 2023); 海藻糖酶 (Trehalase, THL) 是唯一能水解海藻糖的酶, 在昆虫生长、发育、蜕皮等生理活动中起关键作用 (黄智慧, 2022); 蔗糖酶 (Sucrase, SUC) 催化蔗糖水解为葡萄糖和果糖, 在昆虫消化、能量代谢及与宿主植物互作中起关键作用 (王琪等, 2024); 胰蛋白酶 (Trypsin, TRS) 主要分布于中肠, 特异性催化食物蛋白质肽键水解为可吸收的小分子肽和氨基酸, 随后被运输至血淋巴, 为昆虫的生长发育、生殖代谢等提供必需的氮源和能量物质 (廖煌, 2024)。

消化酶活性与昆虫的营养状况直接相关, 而营养状况又会影响昆虫对杀虫剂的耐受能力。例如, 王琪等 (2025) 发现美国白蛾 *Hyphantria cunea* 5 龄幼虫在阿维菌素不同亚致死浓度处理后, 其体内的 α -淀粉酶活性在 24 和 48 h 时均显著高于对照组, 而胰蛋白酶活性在 24 h 时显著高于对照组; 曾健勇 (2020) 发现亚洲型舞毒蛾 *Lymantria dispar* 在阿维菌素处理下, 幼虫体内的海藻糖酶和脂肪酶活性显著提高; 朱九生等 (2008) 发现家蚕 *Bombyx mori* 在不同浓度阿维菌素处理后, 其体内淀粉酶、蔗糖酶和海藻糖酶的活性随时间推移逐渐变化, 直至第 7 天时活性均显著高于对照组。这一系列现象表明, 在药剂胁迫下, 昆虫的碳水化合物和脂质代谢过程会受到干扰, 进而导致消化系统紊乱, 影响正常的营养消化与吸收, 最终对幼虫的生长发育产生不利影响。由此可见, 消化酶通过参与昆虫的营养代谢过程, 对杀虫剂的毒力产生了重要影响。

本研究使用球孢白僵菌 ZJU435、金龟子绿僵菌 CQMa421、苏云金芽孢杆菌、乙基多杀菌素和阿维菌素 5 种生物农药的推荐剂量, 对二化螟 3 龄幼虫进行毒力测定, 评估其对二化螟的毒杀效果; 筛选出防效最佳的生物农药对二化螟

1-4 龄幼虫进行毒力测定, 并测定 3 龄幼虫总蛋白质含量及主要消化酶 (α -淀粉酶、脂肪酶、蔗糖酶、海藻糖酶、胰蛋白酶) 的活性变化, 为生物农药防控二化螟的田间应用提供了理论支撑。

1 材料与方 法

1.1 材 料

供试虫源: 二化螟 (敏感品系) 由湖南省农业科学院杂交水稻研究中心养虫室繁殖提供, 在温室气候箱内用茭白饲养多代, 环境参数设定为恒温 (26 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 70%-80%、光周期 16L : 8D。在整个饲养周期中, 定期观察幼虫发育状态并及时清除残渣。

供试药剂与试剂: 8×10^9 孢子/mL 金龟子绿僵菌 CQMa421 可分散油悬浮剂和 1×10^{10} 孢子/mL 球孢白僵菌 ZJU435 可湿性粉剂购自重庆聚立信生物工程有限公 司; 8 000 IU/ μL 苏云金芽孢杆菌悬浮剂购自武汉科诺生物科技股份有限公司; 5%阿维菌素乳油购自河北兴柏农业科技股份有限公司; 60 g/L 乙基多杀菌素悬浮剂购自科迪华农业科技有 限责任公 司; BCA 蛋白质含量测定试剂盒购自兰杰柯科技有 限公 司; 蔗糖酶购自上海起发实验试剂有 限公 司; α -淀粉酶、海藻糖酶、胰蛋白酶和脂肪酶活性检测试剂盒购自北京索莱宝科技有 限公 司。

供试仪器: KLAM22 Leica SAPO 体视显微镜购自徕卡显微系统 (上海) 贸易有 限公 司;

MLR-352-PC 人工气候培养箱购自上海君翼仪器设备有限公司; 电子天平购自梅特勒托利多国际有 限公 司; UVmini-1240 紫外可见分光光度计购自苏州岛津仪器有 限公 司。

1.2 方 法

1.2.1 生物农药筛选 采用饲料混药法 (周超等, 2024) 对二化螟 3 龄幼虫进行毒力测定。因推荐剂量能较好反映各药剂在实际应用场景中的初步防控效果, 便于快速筛选出毒力较强的药剂, 故使用无菌水将球孢白僵菌 ZJU435、金龟子绿僵菌 CQMa421、苏云金芽孢杆菌、乙基多杀菌素和阿维菌素制剂稀释成推荐剂量 (表 1), 每个浓度均设置 3 次生物学重复, 以无菌水为空白对照。先称取 9 g 人工饲料与 1 mL 药液充分搅拌均匀, 再挑选 30 头健康 3 龄期幼虫, 移至养虫盒内, 以含有药液的饲料进行饲喂, 放在温度为 (26 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度为 70%-80%、光周期为 16L : 8D 的人工气候培养箱中, 每隔 24 h 对各处理组幼虫的存活状态进行细致检查, 连续观察 4 d, 计算出各制剂的校正死亡率。

1.2.2 生物农药对二化螟幼虫不同龄期的毒力测定 根据 1.2.1 节的试验结果, 选择防效最佳的制剂对二化螟 1-4 龄幼虫进行毒力测定。使用无菌水将制剂稀释成母液, 再将母液依次稀释成 1、0.5、0.25、0.125、0.062 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的浓度梯度药液, 每个浓度均设置 3 次生物学重复, 以无菌水为空白对照。先称取 9 g 人工饲料与 1 mL 药

表 1 试剂及推荐剂量

Table 1 Reagents and recommended dosage

药剂名称 Insecticide name	供试药剂使用浓度 Concentration of tested insecticide
80 亿孢子/mL 金龟子绿僵菌 CQMa421 可分散油悬浮剂 OD <i>Metarhizium anisopliae</i> CQMa421 8×10^9 spores/mL OD	1.6×10^7 孢子/mL 1.6×10^7 spores/mL
100 亿孢子/mL 球孢白僵菌 ZJU435 可湿性粉剂 WP <i>Beauveria bassiana</i> ZJU435 1×10^{10} spores/mL WP	2×10^7 孢子/mL 2×10^7 spores/mL
8 000 IU/ μL 苏云金芽孢杆菌悬浮剂 SC <i>Bacillus thuringiensis</i> 8 000 IU/ μL SC	80 IU/ μL
60 g/L 乙基多杀菌素悬浮剂 SC Spinetoram 60 g/L SC	60 $\mu\text{g}/\text{mL}$
5%阿维菌素乳油 EC Avermectin 5% EC	15 $\mu\text{g}/\text{mL}$

OD: 可分散油悬浮剂; WP: 可湿性粉剂; SC: 悬浮剂; EC: 乳油。下表同。

OD: Oil dispersion; WP: Wetttable powder; SC: Suspension concentrate; EC: Emulsifiable concentrate. The same below.

液充分搅拌混匀,再挑选 30 头健康的 1-4 龄幼虫,分别转移至养虫盒内,以含有药液的饲料进行饲喂,将养虫盒置于温度为 (26 ± 1) °C、相对湿度为 70%-80%,光周期为 16L:8D 的人工气候培养箱中,每隔 24 h 对各处理组幼虫的存活状态进行细致检查,连续观察 4 d,统计死亡情况,计算各龄期幼虫的校正死亡率、毒力回归方程、相关系数 (r) 及致死中浓度 (LC_{50})。

1.2.3 生物农药对二化螟 3 龄幼虫蛋白质含量和消化酶系的影响

1.2.3.1 粗酶液制备 按照 1.2.2 节相同处理方式,使用无菌水将防效最佳的制剂稀释成 LC_{50} 浓度,每个浓度均设置 3 次生物学重复,以无菌水为空白对照。先称取 9 g 人工饲料与 1 mL 药液充分搅拌混匀,再挑选 30 头健康的 3 龄幼虫,分别转移至养虫盒内,以含有药液的饲料进行饲喂,用电子天平分别于处理后第 1、2、3 和 4 天称取体重约 0.1 g 的二化螟幼虫,用液氮处理,加入 1 mL PBS 提取缓冲液 ($pH=7.0$),冰浴匀浆,在 10 000 r/min,4 °C 离心 10 min 的条件下,收集上清液。

1.2.3.2 蛋白质含量和消化酶系活性测定 蛋白质含量测定按照试剂盒说明书进行测定,先将可见分光光度计提前预热 30 min 以上,于 562 nm 的波长处对待测样本进行吸光值测定,每次测定间隔 1 min,计算蛋白质含量。

胰蛋白酶、 α -淀粉酶、脂肪酶、蔗糖酶及海藻糖酶的活性按照试剂盒说明书进行测定,先将可见分光光度计提前预热 30 min 以上,分别于 405 nm (胰蛋白酶)、540 nm (α -淀粉酶和海藻糖酶)、710 nm (脂肪酶)、450 nm (蔗糖酶) 的波长处对 5 组待测样本进行吸光值测定,每次测定间隔 1 min,每个样本重复记录 3 次数据,计算出各消化酶的活力。

1.3 数据分析

利用 Excel 2010 软件进行数据统计,采用 SPSS 27.0 软件进行单因素方差分析 (One-way ANOVA) 以及 Duncan 氏新复极差法对各处理间的差异显著性进行检验,计算校正死亡率、毒力回归方程和致死中浓度 (LC_{50})。

校正死亡率 = (处理组死亡率 - 对照组死亡率) / (100 - 对照组死亡率) × 100%。

2 结果与分析

2.1 不同药剂对二化螟毒力测定结果

5 种生物药剂经过连续 4 d 处理二化螟 3 龄幼虫后,幼虫的校正死亡率均随着处理天数的增加而显著升高 ($P < 0.05$),在处理第 4 天,5 种药剂对二化螟幼虫的毒力大小排序为:阿维菌素 (97.78%) > 乙基多杀菌素 (49.87%) > 苏云金芽孢杆菌 (37.34%) > 金龟子绿僵菌 CQMa421 (32.52%) > 球孢白僵菌 ZJU435 (29.11%),其中阿维菌素在各时间点的校正死亡率均显著高于其他药剂 ($P < 0.05$),表明二化螟 3 龄幼虫对阿维菌素最为敏感。因此,选择阿维菌素开展后续研究 (表 2)。

2.2 阿维菌素对二化螟幼虫不同龄期的毒力测定

阿维菌素处理二化螟 1-4 龄幼虫的第 4 天,幼虫的死亡率随龄期的增大而显著降低 ($P < 0.05$),阿维菌素对二化螟幼虫的室内毒力大小排序为 1 龄 > 2 龄 > 3 龄 > 4 龄。在最高浓度 (1 $\mu\text{g/mL}$) 和最低浓度 (0.062 5 $\mu\text{g/mL}$) 处理后,1 龄幼虫的校正死亡率分别为 80.45% 和 28.85%,致死中浓度 (LC_{50}) 为 0.10 $\mu\text{g/mL}$;而 4 龄幼虫的校正死亡率分别为 40.72% 和 6.94%,致死中浓度 (LC_{50}) 为 1.09 $\mu\text{g/mL}$,且致死中浓度显著高于其他龄期 ($P < 0.05$),表明 1 龄幼虫对阿维菌素最为敏感,4 龄幼虫对阿维菌素最不敏感 (表 3,表 4)。

2.3 阿维菌素对二化螟 3 龄幼虫总蛋白含量的影响

二化螟 3 龄幼虫在经过阿维菌素处理后,其幼虫体内的蛋白质含量在 1-4 d 呈现先下降后上升趋势,在第 1 天时达最大值,为 627.76 U/mg,较对照组 (737.60 U/mg) 下降 14.89%,在第 3 天时降至最低,为 562.68 U/mg,较对照组 (755.38 U/mg) 下降 25.51%,且处理组的蛋白质含量在各时间点均显著低于对照组 ($P < 0.05$) (表 5)。

表 2 5 种生物农药对二化螟 3 龄幼虫的毒力
Table 2 Toxicity of five biopesticides to 3rd instar larvae of *Chilo suppressalis*

时间 (d) Time (d)	校正死亡率 (%) Corrected mortality (%)				
	100 亿孢子/mL 球孢白 僵菌 ZJU435 可湿性粉 剂 WP <i>Beauveria bassiana</i> ZJU435 1×10^{10} spores/mL WP	80 亿孢子/mL 金龟子绿 僵菌 CQMa421 可分散 油悬浮剂 OD <i>Metarhizium anisopliae</i> CQMa421 8×10^9 spores/mL OD	8 000 IU/ μ L 苏云金 芽孢杆菌悬浮剂 SC <i>Bacillus thuringiensis</i> 8 000 IU/ μ L SC	60 g/L 乙基多杀 菌素悬浮剂 SC Spinetoram 60 g/L SC	5%阿维菌素乳 油 EC Avermectin 5% EC
1	1.11 \pm 0.02 Cc	0.00 \pm 0.00 Cc	0.00 \pm 0.00 Cc	25.56 \pm 0.04 Bc	61.11 \pm 0.05 Ac
2	11.11 \pm 0.05 Cb	7.78 \pm 0.05 Cbc	14.44 \pm 0.08 Cb	34.44 \pm 0.05 Bbc	67.78 \pm 0.07 Abc
3	15.67 \pm 0.05 Cb	14.52 \pm 0.08 Cb	16.90 \pm 0.06 Cb	40.46 \pm 0.07 Bab	75.36 \pm 0.08 Aab
4	29.11 \pm 0.02 Ca	32.52 \pm 0.05 Ca	37.34 \pm 0.09 Ca	49.87 \pm 0.05 Ba	97.78 \pm 0.06 Aa

同行不同大写字母表示同一虫龄在相同时间的校正死亡率差异显著 ($P < 0.01$, Duncan 氏新复极差法检验), 同列不同小写字母表示同一虫龄在不同时间的校正死亡率差异显著 ($P < 0.05$, Duncan 氏新复极差法检验)。

Different capital letters in the same row indicate significant difference in corrected mortality of the same instar at the same time ($P < 0.01$, Duncan's multiple range test), and different lowercase letters in the same column indicate significant difference in corrected mortality of the same instar at different times ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

表 3 阿维菌素对二化螟不同龄期幼虫的致死效率
Table 3 Toxicity of avermectin against *Chilo suppressalis* larvae at different larval instars

龄期 Instar	浓度 (μ g/mL) Concentration (μ g/mL)	试虫数 Number of insects tested	校正死亡率 (%) Corrected mortality (%)			
			1 d	2 d	3 d	4 d
1 龄 1st instar	1	30	61.11 \pm 5.09 a	71.22 \pm 6.17 a	78.97 \pm 6.65 a	80.45 \pm 5.89 a
	0.5	30	51.11 \pm 1.92 b	57.90 \pm 2.36 b	68.94 \pm 6.59 b	75.21 \pm 7.29 b
	0.25	30	38.89 \pm 3.85 c	40.87 \pm 3.90 c	47.53 \pm 0.95 c	53.95 \pm 3.85 c
	0.125	30	31.11 \pm 5.09 d	33.63 \pm 4.16 c	39.96 \pm 2.91 c	42.09 \pm 3.86 d
	0.062 5	30	21.11 \pm 3.33 e	22.78 \pm 4.56 d	26.07 \pm 5.28 d	28.85 \pm 5.09 e
2 龄 2nd instar	1	30	45.56 \pm 1.92 a	52.80 \pm 3.46 a	62.53 \pm 2.79 a	74.51 \pm 2.87 a
	0.5	30	38.89 \pm 1.92 b	47.16 \pm 5.39 a	60.19 \pm 2.72 a	69.53 \pm 6.87 a
	0.25	30	33.33 \pm 3.33 c	35.98 \pm 2.38 b	39.77 \pm 1.74 b	43.99 \pm 6.08 b
	0.125	30	27.78 \pm 1.92 d	29.23 \pm 2.28 c	31.84 \pm 2.35 c	32.61 \pm 2.33 c
	0.062 5	30	11.11 \pm 1.92 e	13.45 \pm 3.16 d	18.16 \pm 3.80 d	19.82 \pm 2.50 d
3 龄 3rd instar	1	30	31.83 \pm 1.69 a	34.07 \pm 3.34 a	43.51 \pm 3.75 a	46.96 \pm 2.82 a
	0.5	30	27.30 \pm 1.10 a	30.58 \pm 1.83 a	34.11 \pm 1.81 b	38.58 \pm 2.59 b
	0.25	30	16.98 \pm 2.87 b	18.84 \pm 2.26 b	24.71 \pm 0.50 c	30.11 \pm 1.83 c
	0.125	30	12.38 \pm 4.83 b	12.89 \pm 5.19 c	15.27 \pm 3.96 d	16.84 \pm 3.98 d
	0.062 5	30	2.22 \pm 1.92 c	2.34 \pm 2.03 d	8.21 \pm 1.85 e	8.42 \pm 1.99 e
4 龄 4th instar	1	30	21.11 \pm 1.92 a	24.71 \pm 1.74 a	29.91 \pm 2.28 a	40.72 \pm 2.53 a
	0.5	30	21.11 \pm 1.92 a	24.71 \pm 1.74 a	26.42 \pm 1.31 ab	31.40 \pm 0.64 b
	0.25	30	16.67 \pm 3.33 b	17.97 \pm 1.78 b	20.59 \pm 5.27 b	25.53 \pm 3.56 c
	0.125	30	8.89 \pm 1.92 c	10.08 \pm 3.22 c	11.46 \pm 1.63 c	15.11 \pm 1.86 d
	0.062 5	30	0.00 \pm 0.00 d	2.22 \pm 1.92 d	5.63 \pm 5.12 c	6.94 \pm 3.39 e

同列不同字母表示同一虫龄在不同浓度校正死亡率差异显著 ($P < 0.05$, Duncan 氏新复极差法检验)。

Different letters in the same column indicate significant difference in Corrected mortality among concentrations within the same larval instar ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

表 4 阿维菌素对二化螟各龄幼虫的毒力回归方程及致死中浓度 (LC₅₀)
Table 4 Virulence regression equation and median lethal concentrations (LC₅₀) of avermectin against *Chilo suppressalis* larvae across different larval instars

龄期 Instar	毒力回归方程 Virulence regression equation	相关系数 Correlation coefficient	LC ₅₀ 置信区间 (95%) (μg/mL) Confidence interval (95%) (μg/mL)
1 龄 1st instar	$Y = 13.83 + 12.98X$	0.90	0.10 (0.05-0.27)
2 龄 2nd instar	$Y = 8.92 + 16.00X$	0.90	0.37 (0.21-0.53)
3 龄 3rd instar	$Y = 6.10 + 10.39X$	0.91	0.85 (0.60-1.75)
4 龄 4th instar	$Y = 4.62 + 9.24X$	0.92	1.09 (0.76-2.63)

表 5 阿维菌素制剂处理二化螟幼虫的蛋白质含量
Table 5 Protein content of *Chilo suppressalis* larvae treated with avermectin formulation

处理浓度 Treatment concentration	处理不同时间后的蛋白质含量 (U/mg) Protein content after different treatment times (U/mg)			
	1 d	2 d	3 d	4 d
CK	737.60±16.78 a	773.63±13.59 a	755.38±45.66 a	843.95±34.09 a
LC ₅₀	627.76±53.62 b	619.03±5.99 b	562.68±44.47 b	572.52±26.07 b

CK 为无菌水处理的空白对照。同行不同字母表示相同时间对照与处理间的差异显著 ($P < 0.05$, Duncan 氏新复极差法检验)。下表同。

CK represents the blank control treated with sterile water. Different letters within the same row indicate significant difference between the CK (sterile water) and treatment at the same time ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test). The same below.

2.4 阿维菌素对二化螟 3 龄幼虫消化酶系的影响

二化螟 3 龄幼虫在经过阿维菌素处理后, 其幼虫体内的 α -淀粉酶活性随时间推移而呈现显著上升趋势 ($P < 0.05$), 在处理第 4 天, 其活性达到最大值, 为 8.29 U/mg, 较对照组 (5.56 U/mg) 升高了 49.10%; 蔗糖酶活性呈现先下降后上升的趋势, 在处理第 1 天, 其活性达到最大值, 为 1 550.56 U/mg, 较对照组 (672.78 U/mg) 升高了 130.47% ($P < 0.05$); 海藻糖酶活性在第 2 天达到最大值, 为 27.92 U/mg, 较对照组 (10.69 U/mg) 升高了 161.18% ($P < 0.05$); 胰蛋白酶活性在第 2 天达到最大值, 为 1.89 U/mg, 较对照组 (0.97 U/mg) 升高了 94.85% ($P < 0.05$); 脂肪酶活性呈现先下降后上升的趋势, 在第 1 天达到最大值, 为 21.70 U/mg, 较对照组 (16.28 U/mg) 升高了 33.29%, 第 3 天降至最低值, 为 16.22 U/mg, 较对照组 (14.49 U/mg) 升高了 11.93% ($P < 0.05$), 随后第 4 天时, 其活性开始上升 (表 6)。

3 结论与讨论

室内毒力测定结果表明, 5 种生物药剂的杀虫活性表现出显著的时间效应和作用差异, 阿维菌素、球孢白僵菌 ZJU435、苏云金芽孢杆菌、金龟子绿僵菌 CQMa421 和乙基多杀菌素在处理初期毒力相对较低, 随着时间往后推移效果逐渐提升, 在处理 4 d 时, 阿维菌素的毒力最强, 处理 4 d 后的校正死亡率达 97.78%, 显著高于其他 4 种药剂, 这一结果与龙育堂等 (2021) 和韩智慧等 (2022) 研究一致。阿维菌素高效性源于其胃毒和触杀的作用方式, 渗透力强, 在二化螟体内快速吸收与转运, 与 γ -氨基丁酸 (GABA) 受体靶标位点亲和力极高, 通过增加细胞膜对 Cl⁻ 的通透性导致 Cl⁻ 内流, 抑制 GABA 介导的神经信号传导导致神经元电位超极化, 从而引起虫体麻痹死亡 (李小川, 2016)。进一步研究发现, 在浓度为 1 μg/mL 阿维菌素处理后第 4 天, 1 龄幼虫的校正死亡率为 80.45%, 4 龄幼虫仅为 40.72%; 当浓度为 0.062 5 μg/mL 时, 1 龄幼虫的校正死亡率为 28.85%, 4 龄幼虫为 6.94%, 且

表 6 阿维菌素制剂处理二化螟幼虫的消化酶活性

消化酶系 Digestive enzyme	处理浓度 Treatment concentration	处理不同时间后的酶活性 (U/mg)			
		Enzyme activity after different treatment times (U/mg)			
		1 d	2 d	3 d	4 d
α -淀粉酶 α -Amylase	CK	4.06±0.20 b	4.90±0.44 b	5.11±0.31 b	5.56±0.46 b
	LC ₅₀	6.25±0.43 a	6.52±0.53 a	6.60±0.55 a	8.29±0.39 a
蔗糖酶 Sucrase	CK	672.78±63.10 b	1 200.56±108.44 b	1 100.55±9.62 b	1 072.78±38.49 b
	LC ₅₀	1 550.56±41.94 a	1 389.44±135.74 a	1 178.33±44.10 a	1 867.22±150.31 a
海藻糖酶 Trehalase	CK	8.43±0.79 b	10.69±0.79 b	9.79±0.79 b	7.97±0.79 b
	LC ₅₀	18.85±0.79 a	27.92±2.36 a	12.51±0.79 a	15.23±1.57 a
胰蛋白酶 Trypsin	CK	1.01±0.10 b	0.97±0.05 b	0.82±0.05 b	0.98±0.09 b
	LC ₅₀	1.42±0.12 a	1.89±0.16 a	1.16±0.16 a	1.28±0.11 a
脂肪酶 Lipase	CK	16.28±0.14 b	14.38±0.06 b	14.49±0.20 b	14.45±0.19 b
	LC ₅₀	21.70±11.57 a	16.77±1.17 a	16.22±0.19 a	18.53±0.13 a

LC₅₀ 值随幼虫龄期的增加而显著升高。因此,在防治二化螟时应抓住 1-2 龄幼虫高峰期,此时幼虫代谢解毒能力较弱、对药剂敏感性较高,可最大限度发挥阿维菌素的高效性。因二化螟幼虫室内饲养的每个龄期约为 4 d,本研究选择药剂处理后 4 d 作为观察终点,可确保虫体在药剂处理时段维持在一个龄期状态,这样可排除生长发育的影响。

通过测定阿维菌素处理 (LC₅₀) 后二化螟幼虫的总蛋白含量及消化酶系活性,结果表明药剂对幼虫的营养代谢系统产生了显著干扰作用。在 1-4 d,处理组的总蛋白含量持续低于对照组,第 4 天降至 572.52 U/mg,较同期对照组下降 32.16%,表明阿维菌素可能直接或间接抑制了蛋白质合成或加速了蛋白质降解,导致幼虫体内蛋白质持续亏缺,无法满足生长发育的基础物质需求。与此同时,5 种消化酶活性均呈现异常升高,在阿维菌素处理后第 4 天, α -淀粉酶、蔗糖酶、海藻糖酶、胰蛋白酶和脂肪酶的活性分别为 8.29、1 867.22、15.23、1.28 和 18.53 U/mg,较同期对照组分别升高 49.09%、74.05%、47.67%、23.44%和 22.02%,且各酶系均显著高于对照组。并进一步分析发现,不同消化酶的动态变化呈现一定特异性, α -淀粉酶活性呈持续上升的趋势,

推测幼虫可能通过加速淀粉水解来弥补能量供应不足的问题,但活性的持续升高可能导致葡萄糖积累,而引发代谢失衡;蔗糖酶活性呈先降后升的波动,可能是药剂在初期时短暂的抑制肠道功能后,幼虫通过加速蔗糖分解来维持自身平衡,但后期可能因酶活性过度激活导致果糖/葡萄糖比例失衡;海藻糖酶的活性在第 2 天达峰值,随后第 3 天降至最低值,因海藻糖是昆虫血淋巴核心能量物质,其快速分解可能加剧了能量的消耗,反而削弱了幼虫的抗逆能力;胰蛋白酶活性呈先升后降的趋势,其活性升高虽加速了食物蛋白水解为氨基酸,但可能引发幼虫自身组织蛋白的过度降解,导致氮源代谢失衡,加剧了幼虫体内的营养亏缺;脂肪酶活性呈波动上升的趋势,反映幼虫在调动体内的脂类作为备用能量来使用,但脂类持续被代谢分解,可能会对蜕皮激素的合成产生不利影响。这一系列变化可能是幼虫在阿维菌素(神经毒素)刺激下的一种应激性反应,虫体试图维持代谢平衡,然而消化酶活性升高反而干扰了碳水化合物的正常分解(如蔗糖和海藻糖等),昆虫的能量代谢和物质合成受到干扰,机体正常生理功能被破坏,最终表现为营养吸收失衡、生长发育受阻,且可能因代谢耗能增加而增强对药剂的敏感性(王琪等,2025)。

综上所述,在5种生物农药中,阿维菌素对二化螟低龄(1-2龄)幼虫的毒力最强,通过测定总蛋白含量及消化酶系活性,表明阿维菌素可能通过抑制蛋白质合成,诱导消化酶活性,导致二化螟幼虫的营养代谢失衡。本研究为科学合理使用阿维菌素以及二化螟的绿色防控提供了理论基础和科学依据。

参考文献 (References)

- Bonvari A, Hemmatia S, Shishebor P, 2024. Biochemical characteristics of sorghum cultivars affect life table parameters, feeding performance, and digestive enzyme activities of *Helicoverpa armigera*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 172(4): 312-323.
- Chai YP, Zhang JY, Wang YX, Jia D, Ma RY, Guo YQ, 2016. Effects of starvation and different plant feedings on the digestive enzyme activities in the adults of alligator weed flea beetle *Agasicles hygrophila*. *Journal of Plant Protection*, 43(5): 738-744. [柴艳萍, 张建军, 王苑馨, 贾栋, 马瑞燕, 郭艳琼, 2016. 饥饿程度及取食不同植物对莲草直胸跳甲消化酶的影响. 植物保护学报, 43(5): 738-744.]
- Deng JD, Zhuang WX, Liu YJ, Song LW, Zhang LW, 2021. Pathogenicity of white muscardine fungus *Beauveria bassiana* against Japanese pine sawyer beetle *Monochamus alternatus* and its compatibility with ectoparasitic beetle *Dastarcus helophoroides*. *Journal of Plant Protection*, 48(3): 602-609. [邓竣丹, 庄文欣, 刘玉军, 宋丽文, 张龙娃, 2021. 球孢白僵菌对松墨天牛的致病力及其与花绒寄甲的相容性. 植物保护学报, 48(3): 602-609.]
- Guan DJ, Wang JJ, Meng XK, 2024. Research advances in insecticide resistance and mechanisms of *Chilo suppressalis* in China. *Journal of Jilin Agricultural University*, 46(4): 523-530. [官道杰, 王建军, 孟祥坤, 2024. 我国二化螟抗药性发展及其抗性机制研究进展. 吉林农业大学学报, 46(4): 523-530.]
- Han ZH, Liu XH, Li JM, Rong MQ, 2022. Laboratory toxicity determination and field efficacy test of several biopesticides against *Spodoptera frugiperda* in the South China seed breeding area. *Heilongjiang Grain*, 2022(6): 42-44. [韩智慧, 刘兴辉, 李剑明, 荣美琪, 2022. 几种生物农药对南繁区草地贪夜蛾的室内毒力测定及田间药效试验. 黑龙江粮食, 2022(6): 42-44.]
- He C, Shen DR, Yin LH, Zhang R, Yuan SY, Tian XJ, 2021. Effects of spinetoram on the growth and development of *Assara inouei* Yamanaka. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 42(6): 1706-1711. [何超, 沈登荣, 尹立红, 张睿, 袁盛勇, 田学军, 2021. 乙基多杀菌素对井上蛀果斑螟生长发育的影响. 热带作物学报, 42(6): 1706-1711.]
- He SC, Zhou SX, Li LJ, Gao YB, Mao G, Liu J, Sun KN, Li GX, Lu X, 2024. Loss of rice crops caused by the stemborer, *Chilo suppressalis*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 61(1): 157-161. [赫思聪, 周淑香, 李丽娟, 高月波, 毛刚, 刘剑, 孙康娜, 李光雪, 鲁新, 2024. 二化螟危害水稻产量损失研究. 应用昆虫学报, 61(1): 157-161.]
- Huang QT, Zhang GJ, Nan JL, Cheng WN, Keyan ZS, 2021. Characterization of trehalose metabolic genes and corresponding enzymatic activities during diapause of *Sitodiplosis mosellana*. *Journal of Insect Physiology*, 135: 104324.
- Huang ZH, 2022. Effects of music on the growth and development of *Aphis craccivora*. Master dissertation. Changsha: Hunan Agricultural University. [黄智慧, 2022. 音乐对豆蚜生长发育的影响. 硕士学位论文. 长沙: 湖南农业大学.]
- Jin JF, Shen C, Meng M, Chen W, Xu CX, Liu Y, Liu XJ, 2024. Tandem expression and functional analysis of common structure short peptides of *Bacillus thuringiensis* cry toxins. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 53(1): 96-104. [金嘉凤, 沈成, 孟萌, 陈蔚, 徐重新, 刘媛, 刘贤金, 2024. 苏云金芽孢杆菌 Cry 毒素共性结构短肽串联表达及功能分析. 河南农业科学, 53(1): 96-104.]
- Li XC, 2016. Avermectin and parasitic diseases. *Biology Teaching*, 41(5): 69-70. [李小川, 2016. 阿维菌素与寄生虫病. 生物学教学, 41(5): 69-70.]
- Liao H, 2024. Screening and functional studies of proteins in *Plutella xylostella* interacting with Aux/IAA proteins. Master dissertation. Fuzhou: Agriculture and Forestry University. [廖煌, 2024. 小菜蛾中与 Aux/IAA 蛋白互作蛋白的筛选和功能研究. 硕士学位论文. 福州: 福建农林大学.]
- Long YT, Dai CG, Hu Y, Li HB, 2019. Laboratory toxicity and field control efficiency of six bio-pesticides against *Mythimna separata*. *Agrochemicals*, 58(12): 908-910, 914. [龙育堂, 戴长庚, 胡阳, 李鸿波, 2019. 6种生物杀虫剂对黏虫的室内毒力及田间防效. 农药, 58(12): 908-910, 914.]
- Lu ZH, Li H, Tao X, Wan K, Chen Y, Ma RX, Gui FR, Chen YP, 2023. Effects of sublethal concentrations of emamectin benzoate and chlorantraniliprole on digestive enzyme activity, growth and reproduction, of *Spodoptera frugiperda*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 60(4): 1280-1289. [鲁智慧, 李浩, 陶璇, 万坤, 陈尧, 马睿馨, 桂富荣, 陈亚平, 2023. 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和氯虫苯甲酰胺亚致死浓度对草地贪夜蛾消化酶活性和生长发育繁殖的影响. 应用昆虫学报, 60(4): 1280-1289.]
- Mohammadzadeh V, Naseri B, Razmjou J, Pourabad FR, Hosseini N,

2023. Chickpea fertilization with chemical- and bio-fertilizers affected oviposition preference, population growth and digestive enzymatic activity of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Stored Products Research*, 103: 102159.
- Wang S, Huang JM, Guo FR, Liu C, Xie Y, Qiao ST, Chen YX, Wu SF, Bass C, Gao CF, 2024. Flavin-dependent monooxygenase confers resistance to chlorantraniliprole and spinetoram in the rice stem borer *Chilo suppressalis* Walker (Lepidoptera: Crambidae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72(48): 26943–26956.
- Wang Q, Liao SK, Mao XJ, Wei HJ, Lin HY, Chen H, 2024. Effects of host plants on activities of three groups of enzymes in *Perina nuda* larvae. *Journal of Northwest Forestry University*, 39(4): 88–103. [王琪, 廖崧凯, 毛新杰, 卫宏健, 林浩宇, 陈辉, 2024. 不同榕树对榕透翅毒蛾幼虫体内 3 类酶活性的影响. 西北林学院学报, 39(4): 88–103.]
- Wang Q, Wang LZ, Wang Q, Yan SC, 2025. Effects of sublethal concentration of abamectin on the related protective enzymes, detoxification enzymes and digestive enzymes in the *Hyphantria cunea* larvae. *Forest Pest and Disease*, 44(3): 37–43. [王琪, 王隆政, 王晴, 严善春, 2025. 阿维菌素亚致死浓度对美国白蛾幼虫体内保护酶、解毒酶及消化酶活性的影响. 中国森林病虫害, 44(3): 37–43.]
- Wen Y, Zhang LX, 2018. Avermectins, intelligently made in China. *Hereditas*, 40(10): 888–899. [文莹, 张立新, 2018. 阿维菌素的中国“智”造. 遗传, 40(10): 888–899.]
- Ye GY, Fang Q, Xu HX, Wu SF, Teng ZW, Xu G, Dang C, Xiong SJ, 2023. Research advances on the occurrence, damage and management of rice stem borers in China. *Plant Protection*, 49(5): 167–180. [叶恭银, 方琦, 徐红星, 吴顺凡, 滕子文, 徐刚, 党聪, 熊时姣, 2023. 我国水稻螟虫发生及治理研究进展. 植物保护, 49(5): 167–180.]
- Zeng JY, 2020. Biochemical and intestinal microecological response mechanisms of *Lymantria dispar asiatica* larvae against stresses. Doctor dissertation. Harbin: Northeast Forestry University. [曾健勇, 2020. 舞毒蛾幼虫对逆境胁迫的生化与肠道微生态响应机制. 博士学位论文. 哈尔滨: 东北林业大学.]
- Zhong YQ, Wang Q, Sun F, Yu XP, Liu YP, Shentu XP, 2025. Effects of tebuconazole on insecticidal activity and symbionts in brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 208: 106283.
- Zhou C, Chen MN, Wu CX, Zhang Y, Zhang TT, Ouyang M, 2024. Toxicity and field efficacy of six insecticides to main Lepidoptera pests in ear period of maize. *Journal of Maize Sciences*, 32(1): 162–167. [周超, 陈梅楠, 吴翠霞, 张勇, 张田田, 欧阳美, 2024. 6 种杀虫剂对玉米穗期主要鳞翅目害虫毒力及防效评价. 玉米科学, 32(1): 162–167.]
- Zhuo FY, Zhou RN, Meng LL, Li BC, Zhang L, Guo R, Xia YX, Peng GX, 2024. Field effects of *Metarhizium anisopliae* CQMa421 against *Aphis gossypii* and *Apolygus lucorum*. *Plant Protection*, 50(3): 350–354, 360. [卓富彦, 周若男, 蒙玲玲, 李白成, 张莉, 郭荣, 夏玉先, 彭国雄, 2024. 金龟子绿僵菌 CQMa421 对棉蚜、绿盲蝽的田间防效. 植物保护, 50(3): 350–354, 360.]
- Zhu JS, Wang J, Gao HY, Qin S, Qiao XW, Han JC, 2008. Effects of sub-lethal dosages abamectin on food intake and digestive enzyme activities of silkworm *Bombyx mori* L. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 19(11): 2527–2532. [朱九生, 王静, 高海燕, 秦曙, 乔雄梧, 韩巨才, 2008. 亚致死剂量阿维菌素对家蚕食物利用及中肠消化酶活性的影响. 应用生态学报, 19(11): 2527–2532.]
- Zhu XM, Ma CL, Chen MN, Liu Q, Han MB, 2024. Toxicity determination and field control effect of different biopesticides on *Trialeurodes vaporariorum* in greenhouse tomato. *China Cucurbits and Vegetables*, 37(12): 157–162. [朱秀苗, 马成立, 陈梅楠, 刘青, 韩明彬, 2024. 不同生物农药对温室番茄白粉虱的毒力测定及田间防效. 中国瓜菜, 37(12): 157–162.]