

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2022.06.006

二硫化碳对不同磷化氢抗性赤拟谷盗毒力、呼吸和解毒酶活性的影响

何文强^{1,2}, 李丽², 李柏树², 张广平², 张俊争¹, 刘涛²

1. 中国农业大学 植物保护学院, 北京 100193; 2. 中国检验检疫科学研究院 装备技术研究所, 北京 100020

摘要: 为了探究使用二硫化碳(carbon disulfide, CS₂)治理磷化氢抗性仓储害虫的可行性,本研究测定了 4 种赤拟谷盗(*Tribolium castaneum*)品系的磷化氢抗性水平,二硫化碳对 4 种不同磷化氢抗性品系赤拟谷盗的毒力,亚致死浓度,二硫化碳熏蒸对赤拟谷盗呼吸以及对乙酰胆碱酯酶(AChE)、细胞色素 P450 单氧酶(P450s)、羧酸酯酶(CarE)3 种解毒酶活性的影响。结果表明,澳大利亚(AU)、齐河(QH)、淄博(ZB)和深圳(SZ)4 个品系对磷化氢抗性水平分别为低抗、中抗、极高抗、极高抗,而对二硫化碳的毒性较为接近;二硫化碳熏蒸后呼吸强度显著增强,AChE, CarE 两种酶的活性明显增强,P450s 活性变化与磷化氢抗性水平有关。综上,磷化氢和二硫化碳之间没有明显的交互抗性,二硫化碳熏蒸之后试虫代谢加快,AChE, CarE, P450s 等 3 种酶能够参与赤拟谷盗二硫化碳的代谢解毒机制。

关键词: 赤拟谷盗; 二硫化碳; 磷化氢抗性; 解毒酶

中图分类号: S763.38 **文献标志码:** A

文章编号: 1673-9868(2022)06-0055-09 开放科学(资源服务)标识码(OSID): 

Effects of Carbon Disulfide on the Toxicity, Respiration and Detoxification Enzyme Activities of *Tribolium castaneum* with Different Phosphine Resistance

HE Wenqiang^{1,2}, LI Li², LI Baishu²,
ZHANG Guangping², ZHANG Junzheng¹, LIU Tao²

1. College of Plant Protection, China Agricultural University, Beijing 100193, China;
2. Institute of Inspection Technology and Equipment, Chinese Academy of Inspection Quarantine, Beijing 100020, China

Abstract: In order to determine the possibility of using carbon disulfide (CS₂) to control phosphine-resistant storage pests, the toxicity of CS₂ on the adult of four different Phosphine-resistant strains of *Triboli-*

um castaneum were studied. The effects of sublethal concentration of CS₂ fumigation on the respiration rates and the activities of Ache, P450s and CarE detoxification enzymes of *T. castaneum* were investigated. The results showed that the resistance levels of four strains of Australia (AU), Qihe (QH), Zibo (ZB) and Shenzhen (SZ) to PH₃ were low resistant, medium resistant, extremely high resistant and extremely high resistant, respectively, while the toxicity of CS₂ to four strains of AU, QH, ZB and SZ was similar. After sublethal concentration (CS₂) treatment, the respiration rates significantly increased. The activities of Ache and CarE in the treatment group were higher than that in control group and the changes of P450s activity were related to the level of phosphine resistance. In conclusion, there was no cross-resistance between PH₃ and CS₂. After CS₂ fumigation, the metabolism of the test insects was accelerated. Ache, CarE and P450s would participate in the metabolism and detoxification of CS₂ in *T. castaneum*.

Key words: *Tribolium castaneum*; carbon disulfide; phosphine resistance; detoxifying enzymes

磷化氢(PH₃)熏蒸作为防治仓储害虫的主要手段,已经在世界范围内应用了近 60 年^[1-2]. 但是由于大规模、不规范地使用磷化氢,许多仓储害虫已经对磷化氢产生了一定的抗性^[3-5]. 目前,高磷化氢抗性的仓储害虫在世界各地均有报道,如澳大利亚多个地区的锈赤扁谷盗(*Cryptolestes ferrugineus*)的磷化氢抗性倍数均达到 400 倍以上^[6],从美国不同地区收集的赤拟谷盗(*Tribolium castaneum*)中发现有磷化氢抗性倍数达 127 倍的种群^[7];在我国的福建、海南、山东、广东、湖南等地区收集的赤拟谷盗、锈赤扁谷盗和谷蠹(*Rhizopertha dominica*)对磷化氢均有抗性,最高抗性可达 1 173.6 倍^[8-9].

随着仓储害虫对磷化氢的抗性逐步增强,用磷化氢防治仓储害虫的成本也越来越高. 因此,国内外的研究者急于寻找一种替代性熏蒸剂来减少对磷化氢的依赖性. Jagadeesan R 等^[10-11]的研究表明,在几种主要的仓储害虫中,硫酰氟(SF)和磷化氢之间均不存在交互抗性. 研究者们也在逐步探索甲酸乙酯(EF)^[12-13]等药剂能否充当磷化氢的替代品,或者能否减少对磷化氢的依赖. 虽然对硫酰氟、甲酸乙酯等替代性熏蒸剂的开发,能够减轻对磷化氢的依赖,但是前人的研究表明,硫酰氟在熏蒸处理过程中,需要非常高的浓度才能够杀死害虫的卵,相比于磷化氢熏蒸处理更加昂贵^[14],并且在硫酰氟熏蒸处理之后会留下氟化物残留^[15-16];而甲酸乙酯的吸附性很强,在投药之后浓度会急剧下降,并且对一些水果、蔬菜具有较高的植物毒性^[17-18].

二硫化碳(CS₂)是一种非常好的熏蒸剂,曾被用于熏蒸苹果蠹蛾,与溴甲烷相比毒性较低,价格也比溴甲烷低,且熏蒸之后在水果上的残留量较低,安全范围较大,不易产生药害^[19]. 二硫化碳与四氯化碳混合熏蒸防治仓储害虫谷蠹的效果也非常好,并且在粮食中也能保持低毒低残留的特性,熏蒸过后毒气残留远低于允许残留标准^[20]. 二硫化碳还用于熏蒸苗木^[21]、牧草种子^[22]和巢脾^[23],在防治红苕黑斑病上也有不错的效果^[24]. 但是二硫化碳的沸点为 46.3 °C,空气中燃烧极限为 1.25%~44%,闪点约 20 °C,在 100 °C 左右能自燃^[25],因为其易燃易爆的特性,不能够长期、大面积地使用. 近年来,随着人工制氮技术的突破,氮气作为稀释气体与二硫化碳混合使用能够克服二硫化碳易燃易爆的特点,再加上熏蒸剂的安全投药技术提高,在实际操作中能够对二硫化碳安全使用,因此,本试验开展了对使用二硫化碳解决磷化氢抗性问题的探索.

赤拟谷盗是一种非常重要的仓储害虫,属鞘翅目、拟步甲科,食性较为广泛,为害严重,除直接为害以外,还可以分泌一些有毒物质,严重影响粮食质量和粮食安全^[13-14]. 本试验以不同品系的赤拟谷盗成虫为试虫,在测定各个品系的磷化氢抗性的基础上,研究了二硫化碳对不同磷化氢抗性品系赤拟谷盗的毒力以及解毒酶活性的影响,为深入探索二硫化碳的杀虫机理提供基础,并且为解决磷化氢抗性问题的有效防

治仓储害虫提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 试验虫源

赤拟谷盗的饲养方法参照赵娜娜等^[26]的方法, 4 种品系的赤拟谷盗初始种群分别采集于我国山东齐河(QH)、广东深圳(SZ)、山东淄博(ZB)以及澳大利亚(AU)4 个地区, 采用活性酵母和全麦面粉混合(质量比为 1 : 9), 在温度(25±1)℃, 相对湿度 65%~75%条件下避光饲养, 挑选发育健康、活动能力强的成虫作为供试虫源.

1.2 试剂与仪器

磷化氢(PH₃)标准气(1.02%)购自北京北氧特种气体研究所, 二硫化碳(CS₂)采购于北京伊诺凯科技有限公司, 羧酸酯酶(CarE)试剂盒、乙酰胆碱酯酶(AChE)试剂盒采购于南京建成生物工程研究所, 细胞色素 P450(CYP450)试剂盒采购于上海江莱生物科技有限公司.

气相色谱仪: 安捷伦 6890N, 美国安捷伦公司生产; 紫外分光光度计: U-3310, 日本日立公司生产; 高速冷冻离心机: 5417R, 德国 Eppendorf 公司生产; 酶标仪: Spectra Max i3, 美谷分子仪器(上海)有限公司生产.

1.3 赤拟谷盗各品系对磷化氢的抗性测定

根据联合国粮食及农业组织(FAO)推荐的熏蒸剂毒力测定方法, 将 150 头体型相似且活动能力强的赤拟谷盗成虫密封于容积为 6 L 的熏蒸罐内, 用气密性良好的注射器注射磷化氢气体, 进行熏蒸处理. 具体投药浓度和熏蒸条件见表 1.

表 1 4 种品系赤拟谷盗的磷化氢熏蒸浓度与条件

品系	熏蒸浓度	熏蒸条件
AU	0.014~0.114 g/m ³	25℃, 相对湿度(70±5)%, 20 h
QH	0.071~0.71 g/m ³	25℃, 相对湿度(70±5)%, 20 h
ZB	1.207~14.484 g/m ³	25℃, 相对湿度(70±5)%, 20 h
SZ	2.414~14.484 g/m ³	25℃, 相对湿度(70±5)%, 20 h

熏蒸结束后, 在通风橱内进行散气, 散气后取出试虫, 在饲养条件下放置 7 d. 记录试虫的死亡数量(死亡标准为使用毛笔或者解剖针触动背部试虫无反应^[27]), 计算死亡率^[28]. 各处理均重复 3 次, 且根据磷化氢抗性水平判断指标^[29]判断 4 种品系的抗性水平. 抗性系数 1~5 表示抗性水平为敏感, 抗性系数 5~10 表示抗性水平为低抗, 抗性系数 10~40 表示抗性水平为中抗, 抗性系数 40~160 表示抗性水平为高抗, 抗性系数 160 以上表示抗性水平为极高抗.

1.4 二硫化碳对赤拟谷盗毒力测定

将 30 头体型相似且活动能力强的赤拟谷盗成虫密封于 6 L 的熏蒸罐内, 熏蒸罐底部放置小风扇, 投药过后打开风扇使二硫化碳充分挥发且循环均匀, 设定二硫化碳熏蒸浓度为 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120 g/m³. 在 25℃, 相对湿度(70±5)%条件下熏蒸处理 4 h. 熏蒸结束后, 在通风橱中散气, 散气后取出试虫, 在饲养条件下放置 48 h. 记录试虫的死亡数量(死亡标准为使用毛笔或者解剖针触动背部试虫无反应), 计算死亡率. 以上各处理均重复 3 次, 以未熏蒸的试虫作为对照.

1.5 赤拟谷盗体内解毒酶以及蛋白含量的测定

将不同品系的赤拟谷盗在 LD₅₀ 的二硫化碳浓度下熏蒸 4 h, 散气 2 h 后, 以 5 头成虫一组分装入离心

管中并立即放入液氮,在液氮里放置 5 min 以上,未熏蒸的试虫作为对照组,置于一 80 ℃ 冰箱中保存. 将试虫称质量,按质量(g): 体积(mL)=1: 9 的比例,加入 9 倍体积 4 ℃ 预冷的生理盐水,冰水浴条件下机械匀浆,12 000 r/min 离心 10 min,收集上清液作为酶源. 根据羧酸酯酶(CarE)试剂盒、乙酰胆碱酯酶(AChE)试剂盒,细胞色素 P450(CYP450)试剂盒说明书分别测定试虫的酶活^[30].

总蛋白含量测定使用考马斯亮蓝染液和牛肉清白蛋白(BSA)标准溶液,参照 Bradford 考马斯亮蓝 G-250 法^[31]进行测定.

1.6 熏蒸处理对赤拟谷盗呼吸强度的影响测定

呼吸强度的测定参照张凡华等^[32]的方法,将 30 头试虫放在 250 mL 密封玻璃瓶中,以 LD₅₀ 浓度的 CS₂ 熏蒸 4 h,分别在熏蒸开始以及熏蒸结束时测定玻璃瓶中 CO₂ 浓度. 散气后在 25 ℃、相对湿度(70±5)%、黑暗的条件下放置 24 h,之后将试虫放置到 250 mL 的密封玻璃瓶中,再测定玻璃瓶中 0 h,1 h 的 CO₂ 浓度,将熏蒸处理的试虫作为处理组,未熏蒸处理的试虫作为对照组. 对照组的呼吸强度测定:未熏蒸的 30 头试虫在密封玻璃瓶中,测定玻璃瓶中 0 h 和 1 h 时的 CO₂ 浓度,计算其呼吸强度;熏蒸过程中呼吸强度测定:将 30 头试虫放入密封的玻璃瓶中进行熏蒸,在熏蒸过程中测定玻璃瓶中 0 h 和结束时的 CO₂ 浓度,并计算呼吸强度;熏蒸后的呼吸强度测定:将熏蒸过后,且饲养条件下放置 24 h 的试虫再放置到密封玻璃瓶中,测定玻璃瓶中 0 h 和 1 h 的 CO₂ 浓度,并计算呼吸强度. 呼吸强度以单位 mL/h/个表示.

$$\text{呼吸强度} = (\text{最终 CO}_2 \text{ 浓度} - \text{初始 CO}_2 \text{ 浓度}) / (\text{熏蒸时间} \times \text{试虫个数})$$

1.7 数据分析

采用 Microsoft Excel 统计整理相关试验数据,用 SPSS 23.0 版本 Duncan 氏检验法对相关指标进行差异显著性分析,处理与对照之间的差异显著性采用 *t* 测验,用 POLO Plus 软件进行毒力分析.

2 结果与分析

2.1 赤拟谷盗各品系磷化氢抗性测定

根据 FAO 推荐的方法^[21]测定 4 种品系对磷化氢的抗性水平,与 Jagadeesan R 等^[10]测定的敏感品系进行比较. 结果可知,AU 品系抗性最低,LD₅₀ 为 0.033 mg/L,抗性倍数为 7.1 倍;QH 品系的抗性其次,LD₅₀ 为 0.175 mg/L,抗性倍数为 38.1 倍;而 ZB 品系的抗性较高,LD₅₀ 为 2.110 mg/L,抗性倍数为 458.6 倍;SZ 品系的抗性最强,LD₅₀ 为 4.701 mg/L,抗性倍数为 1 022.0 倍. 根据磷化氢抗性水平判断指标判断 4 种品系中 AU 为低抗品系,QH 为中抗品系,ZB 和 SZ 为极高抗品系(表 2).

表 2 磷化氢熏蒸处理对 4 种赤拟谷盗品系的毒力

品系	总虫数	斜率	χ^2	异质系数	LD ₅₀ (95%CL)/(mg·L ⁻¹)	<i>df</i>	抗性倍数(<i>Rf</i>)
AU	150	4.10±0.24	2.988	0.75	0.033(0.031, 0.035)	4	7.1
QH	150	1.82±0.14	3.523	0.88	0.175(0.153, 0.197)	4	38.1
ZB	150	2.68±0.18	4.815	1.20	2.110(1.770, 2.435)	4	458.6
SZ	150	3.03±0.20	3.846	0.96	4.701(4.296, 5.090)	4	1 022.0

注:赤拟谷盗各品系的磷化氢抗性倍数 $Rf = \text{抗性品系 LD}_{50} \text{ 值} / \text{敏感品系 LD}_{50} \text{ 值}$ (敏感品系 LD₅₀ = 0.0046 g/m³)^[10].

2.2 二硫化碳对赤拟谷盗各品系的毒力测定

试验结果看出,二硫化碳熏蒸对 AU, QH, ZB, SZ 品系的 LD₅₀ 分别为 89.14, 96.43, 85.64, 84.64 g/m³. 4 种不同磷化氢抗性水平的赤拟谷盗在二硫化碳熏蒸之后,AU,ZB,SZ 品系 LD₅₀ 的置信区间均有重合. 因此可以看出不同抗性品系的赤拟谷盗对二硫化碳的敏感性是基本相似的,磷化氢和二硫

化碳之间没有明显的交互抗性(表 3)。

表 3 二硫化碳熏蒸处理对 4 种赤拟谷盗品系的毒力

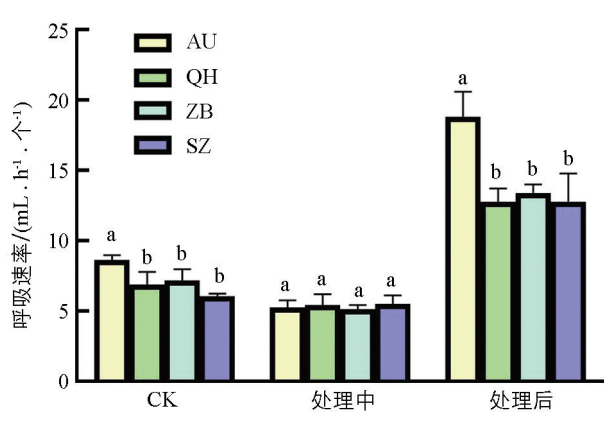
品系	总虫数	斜率	χ^2	异质系数	LD ₅₀ (95%CL)/(mg·L ⁻¹)	df
AU	810	9.59±0.64	38.494	1.75	89.14(85.77, 92.79)	25
QH	810	14.29±1.01	27.238	1.01	96.43(94.32, 98.58)	25
ZB	810	14.92±0.96	33.750	7.42	85.64(80.07, 91.16)	25
SZ	810	13.37±0.84	38.935	1.74	84.64(81.95, 87.27)	25

2.3 二硫化碳熏蒸对赤拟谷盗呼吸强度的影响

试验结果看出, 在对照组中, 低抗品系 AU 呼吸强度最高, 和其他 3 种抗性品系间差异有统计学意义, 可以看出, 在抗性品系之中, 呼吸强度会降低. 在使用二硫化碳熏蒸赤拟谷盗的过程之中, 4 种品系的呼吸强度相比较于对照组均有所降低, 但各处理组间差异无统计学意义. 在熏蒸之后, 4 种品系相比较于对照组, 呼吸强度均有增高. 处理组相比对照组, AU 品系提高 2.2 倍, QH 和 ZB 品系提高 1.9 倍, SZ 品系提高 2.1 倍. 4 种品系处理前后呼吸强度增加倍数差异无统计学意义($F_{3,11}=1.11$, $p=0.40$). 说明 4 种品系在呼吸层面对二硫化碳的响应是一致的(图 1)。

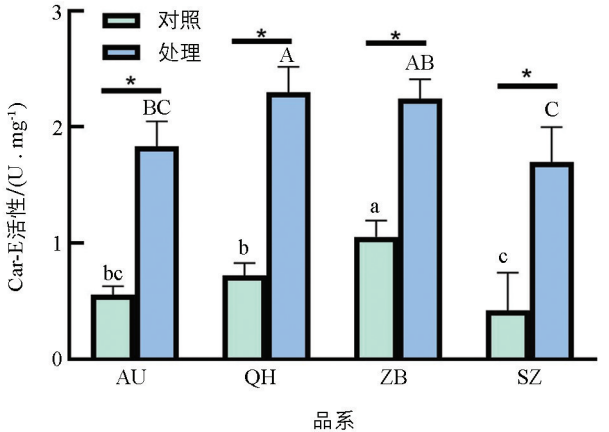
2.4 二硫化碳处理后对赤拟谷盗体内 CarE 活性的影响

对比对照组中 4 种品系的赤拟谷盗体内 CarE 活性水平, 结果发现, ZB 品系的酶活性最高, 高于 AU, QH, SZ 3 个品系, 且差异有统计学意义; QH 品系显著高于 SZ 品系, 而 AU 品系和 QH, SZ 品系之间差异无统计学意义; 对比 4 种品系的磷化氢抗性水平, CarE 活性和抗性水平之间无相关性. 处理组中, QH 品系活性最高, 高于 AU, SZ 品系且差异有统计学意义; ZB 品系明显高于 SZ 品系, AU 品系与 SZ 和 ZB 品系之间差异无统计学意义. 在同一品系的处理和对照之间, 经过 LD₅₀ 的二硫化碳熏蒸处理前后, 所有品系的 CarE 活性均显著提高. 其中 SZ 品系 CarE 活性提高最多, 相比于对照组提高了 4.12 倍; 其次是 AU, QH 品系的酶活性, 分别提高了 3.3 倍和 3.2 倍; 最后是 ZB 品系, 提高了 2.12 倍(图 2)。



“CK”为空白对照, “处理中”表示熏蒸过程中, “处理后”为熏蒸结束 24 h 之后; 小写字母不同表示不同品系间差异有统计学意义($p<0.05$).

图 1 二硫化碳处理对赤拟谷盗呼吸强度的影响



小写字母不同表示不同品系间差异有统计学意义($p<0.05$), 大写字母不同表示未处理的不同品系间差异有统计学意义($p<0.05$)“*”表示同一品系空白对照与处理间差异有统计学意义($p<0.05$).

图 2 二硫化碳处理对赤拟谷盗 CarE 活性的影响

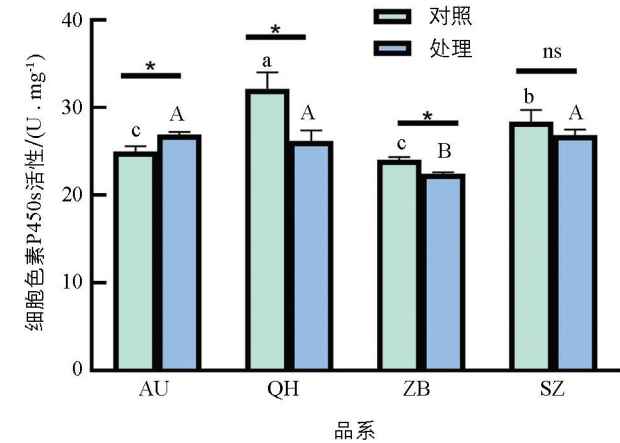
2.5 二硫化碳处理后对赤拟谷盗体内 P450s 活性的影响

试验结果可以看出, 对照组中, QH 品系 P450s 活性最高, 高于 AU, ZB, SZ 3 个品系且差异有统计学意义; SZ 品系酶活性高于 AU, ZB 两个品系, 差异有统计学意义, 而 AU 和 ZB 酶活性之间差异无统计学意义. 处理组中, AU, QH, SZ 3 个品系之间差异无统计学意义, 但均显著高于 ZB 品系. 在同一品系的处

理和对照之间,经过 LD₅₀ 的二硫化碳熏蒸处理前后,AU 品系的 P450s 活性显著增高,相比较于对照组提高到 1.08 倍,而 QH,ZB 2 个品系的赤拟谷盗相比较于对照组 P450s 的活性均显著降低,ZB 品系相比较于对照组下降到 0.93 倍,QH 品系相比较于对照组下降到 0.81 倍,SZ 品系无显著性差异(图 3)。

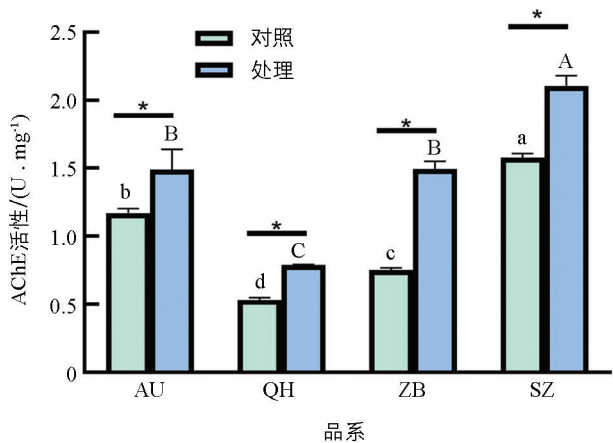
2.6 二硫化碳处理后对赤拟谷盗体内 AChE 活性的影响

试验结果看出,对照组中 SZ,AU,ZB,QH 4 种品系酶活有差异,且差异均有统计学意义;处理组中,SZ 品系 AChE 的活性最高,与 AU,ZB,QH 之间差异均有统计学意义,AU,ZB 2 个品系之间 AChE 的活性差异无统计学意义,但均高于 QH 品系.在同一品系的处理和对照之间,经过 LD₅₀ 的二硫化碳熏蒸处理前后,AChE 的活性相比较于对照组均有显著提高,其中 ZB 品系的 AChE 活性提高的最多,相比较于对照组提高到 1.99 倍,其次是 QH 品系,酶活性水平提高到 1.49 倍,AU 和 SZ 品系提高较少,分别提高到 1.27 倍和 1.33 倍(图 4)。



小写字母不同表示不同品系间差异有统计学意义($p<0.05$),大写字母不同表示未处理的不同品系间差异有统计学意义($p<0.05$),“*”表示同一品系空白对照与处理间差异有统计学意义($p<0.05$),ns 表示无显著性差异。

图 3 二硫化碳处理对赤拟谷盗 P450s 活性的影响



小写字母不同表示不同品系间差异有统计学意义($p<0.05$),大写字母不同表示未处理的不同品系间差异有统计学意义($p<0.05$),“*”表示同一品系空白对照与处理间差异有统计学意义($p<0.05$)。

图 4 二硫化碳处理对赤拟谷盗体 AChE 活性的影响

3 结论与讨论

利用磷化氢防治仓储害虫已有超过 60 年的历史,随着仓储害虫抗药性的产生,磷化氢的防治效果也越来越差^[32-34].因此探索新型的重蒸剂来减少对磷化氢的依赖性非常重要.之前的研究表明,硫酰氟与磷化氢并无交互抗性作用,能够作为防治磷化氢抗性的一种替代药剂^[10-11];臭氧^[35]、甲酸乙酯^[12-13]等同样也可以作为对抗磷化氢抗性的可选择熏蒸剂;而二硫化碳作为一种熏蒸剂,具备穿透性好、杀虫效果好等特点,能够有效地防治赤拟谷盗等仓储害虫^[36].本试验旨在探索二硫化碳与磷化氢是否具有交互抗性,并探索二硫化碳处理后赤拟谷盗代谢以及解毒酶的变化,从而判断二硫化碳能否可以成为对抗磷化氢抗性的一种新药剂。

本试验首先通过 FAO 推荐的测定磷化氢抗性的方法,根据 Jagadeesan R 等^[10]测定的敏感品系,得出 AU 品系的抗性倍数为 7.1,QH 品系的抗性倍数为 38.1,ZB 品系的抗性倍数为 458.6,SZ 品系的抗性倍数为 1 022.0,能够覆盖低抗、中抗、极高抗 3 个等级.本试验中二硫化碳毒力数据 LD₅₀ 的 CT 值(熏蒸时间×熏蒸浓度)分别是 AU 为 356.56 mg·h/L,QH 为 385.72 mg·h/L,ZB 为 342.56 mg·h/L,SZ 为 338.56 mg·h/L.根据 Jagadeesan R 等^[10]测定的数据,使用硫酰氟熏蒸 2 种不同抗性水平的赤拟谷盗,LD₅₀ 的 CT 值分别为 6.72 mg·h/L 和 8.16 mg·h/L.根据唐培安等^[37]测定的数据,使用甲酸乙酯熏蒸赤拟谷盗,LD₅₀ 的 CT 值为 660.38 mg·h/L,因此可以看出二硫化碳对于仓储害虫成虫杀虫效果低于硫

酰氟,高于甲酸乙酯。

本试验测定了 4 种不同品系赤拟谷盗熏蒸前后的呼吸强度,在熏蒸之前可以看出,低抗品系的呼吸强度高于抗性品系的呼吸强度,这与 Price 等^[38]的研究结果相似。而在熏蒸过程中赤拟谷盗的呼吸强度降低,并且各个品系之间差异无统计学意义,而在熏蒸之后 4 种品系的呼吸强度均有明显提高,说明在熏蒸之后赤拟谷盗体内的整体代谢水平提高,以对抗二硫化碳对自身的伤害。

解毒酶对杀虫剂的代谢解毒能力是研究昆虫对杀虫剂胁迫相应机制的主要途径之一。本试验还测定了 4 种不同磷化氢抗性品系的赤拟谷盗体内解毒酶的表达水平。研究结果发现,P450s 的活性在二硫化碳处理前后低抗 AU 品系 P450s 活性显著升高,而中、高抗品系 QH, SZ 品系 P450s 活性显著降低,此结果与 HUANG 等^[39]以亚致死浓度磷化氢处理赤拟谷盗后敏感品系 P450s 活性显著降低、而抗性品系 P450s 活性显著升高的结果对比,说明磷化氢与二硫化碳的杀虫机理不同,也进一步论证了二硫化碳和磷化氢之前没有交互抗性,并与其试验结论赤拟谷盗中 P450s 活性与磷化氢抗性水平有关相似。本试验 4 种品系赤拟谷盗中 CarE 和 AChE 活性在经过二硫化碳处理后均显著提高;而在唐培安等^[37]的研究中,使用甲酸乙酯熏蒸处理米象后,米象体内的 AChE 和 CarE 活性显著降低;徐丽^[40]的研究也表明,甲酸乙酯能够抑制酯酶的活性和 AChE 的活性,说明二硫化碳的杀虫机理和另一种磷化氢的替代性熏蒸剂甲酸乙酯的杀虫机理也是不同的。处理前后 3 种酶均有显著性变化,AChE, CarE, P450s 3 种解毒酶能够参与赤拟谷盗对二硫化碳的代谢过程。

替代性熏蒸剂的筛选在国内外已经做了较多的研究,其中最重要的 2 种是硫酰氟和甲酸乙酯。硫酰氟已经被证实与磷化氢之间没有交互抗性^[11],并且,硫酰氟在熏蒸处理赤拟谷盗上也能够有很好的效果^[41]。但是硫酰氟熏蒸的缺点也同时限制了其大规模推广使用,首先硫酰氟熏蒸完全杀死卵所需要的浓度较高,其次,在温度低于 25℃,硫酰氟的熏蒸效果会大大削减^[10-11],这就导致使用硫酰氟熏蒸处理时所需要的成本比使用磷化氢高许多。另一种熏蒸剂甲酸乙酯也是一种非常常见的替代性熏蒸剂,被证实可以有效地熏蒸干果和谷物^[42-44]以及西花蓟马^[43]、烟蓟马^[45]等有害生物,但有报道指出,甲酸乙酯虽然熏蒸时间较短,但是能够对许多植物和水果包括南瓜、香蕉、香菜等造成损伤^[46-47]。而本试验用的二硫化碳,根据徐国淦等^[19]的研究表明,其在熏蒸水果的过程之中,不易造成药害及对外观及品质等的影响;虽然该药毒性较低,但是穿透效果较好^[36],并且从效率和成本上来说二硫化碳是最有效的粮食熏蒸剂之一。目前国内外还没有关于氮气与二硫化碳混合使用的报道,但在实际应用中氮气与磷化氢混合技术已经成熟^[47],使用氮气不但能够实现更安全地投药,而且还有一定的增效效果,因此之后可以探索氮气与二硫化碳混合技术。总之,开发出一种类似于溴甲烷或者磷化氢的广谱性熏蒸剂是非常困难的,在这种情况下,不同替代性熏蒸剂的开发往往是针对于特定水果、特定昆虫和特定食品的。本试验针对仓储害虫,利用二硫化碳熏蒸处理不同磷化氢抗性的赤拟谷盗,发现二硫化碳与磷化氢之间没有交互抗性,为对抗仓储害虫磷化氢抗性的发展提供了新的思路。

参考文献:

- [1] FIELDS P G, WHITE N D G. Alternatives to Methyl Bromide Treatments for Stored-Product and Quarantine Insects [J]. Annual Review of Entomology, 2002, 47: 331-359.
- [2] BELL C H. Fumigation in the 21st Century [J]. Crop Protection, 2000, 19(8-10): 563-569.
- [3] 石春光,辛玉红,石磊. PH₃ 抗性害虫防治技术综述 [J]. 粮食加工, 2004, 29(2): 38-40.
- [4] LORINI I, COLLINS P J, DAGLISH G J, et al. Detection and Characterisation of Strong Resistance to Phosphine in Brazilian *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae) [J]. Pest Management Science, 2007, 63(4): 358-364.
- [5] 赵光涛,羿利民,庄欠玉,等. 浅析磷化氢熏蒸抗药性储粮害虫 [J]. 粮油仓储科技通讯, 2016, 32(4): 44-45.

- [6] NAYAK M K, HOLLOWAY J C, EMERY R N, et al. Strong Resistance to Phosphine in the Rusty Grain Beetle, *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) (Coleoptera: Laemophloeidae): Its Characterisation, a Rapid Assay for Diagnosis and Its Distribution in Australia [J]. Pest Management Science, 2013, 69(1): 48-53.
- [7] CATO A J, ELLIOTT B, NAYAK M K, et al. Geographic Variation in Phosphine Resistance among North American Populations of the Red Flour Beetle (Coleoptera: Tenebrionidae) [J]. Journal of Economic Entomology, 2017, 110(3): 1359-1365.
- [8] 程宏, 王康旭, 车美玲, 等. 我国不同谷蠹种群的磷化氢抗性监测 [J]. 粮食科技与经济, 2020, 45(9): 69-71, 125.
- [9] 孟宏杰, 陈锐, 唐培安, 等. 臭氧对不同磷化氢抗性储粮害虫作用效果研究 [J]. 植物保护, 2020, 46(3): 291-296.
- [10] JAGADEESAN R, NAYAK M K, PAVIC H, et al. Susceptibility to Sulfuryl Fluoride and Lack of Cross-Resistance to Phosphine in Developmental Stages of the Red Flour Beetle, *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) [J]. Pest Management Science, 2015, 71(10): 1379-1386.
- [11] JAGADEESAN R, NAYAK M K. Phosphine Resistance does not Confer Cross-Resistance to Sulfuryl Fluoride in Four Major Stored Grain Insect Pests [J]. Pest Management Science, 2017, 73(7): 1391-1401.
- [12] 唐培安, 邓永学, 王进军, 等. 甲酸乙酯控制储粮害虫研究进展 [J]. 粮食储藏, 2006, 35(1): 13-17.
- [13] REN Y L, LEE B, PADOVAN B, et al. Ethyl Formate Plus Methyl Isothiocyanate—A Potential Liquid Fumigant for Stored Grains [J]. Pest Management Science, 2012, 68(2): 194-201.
- [14] JAGADEESAN R, SINGARAYAN V T, CHANDRA K, et al. Potential of Co-Fumigation with Phosphine (PH_3) and Sulfuryl Fluoride (SO_2F_2) for the Management of Strongly Phosphine-Resistant Insect Pests of Stored Grain [J]. Journal of Economic Entomology, 2018, 111(6): 2956-2965.
- [15] SRIRANJINI V R, RAJENDRAN S. Sorption of Sulfuryl Fluoride by Food Commodities [J]. Pest Management Science, 2008, 64(8): 873-879.
- [16] MÜHLE J, HUANG J, WEISS R F, et al. Sulfuryl Fluoride in the Global Atmosphere [J]. Journal of Geophysical Research: Atmospheres, 2009, 114(D5): 53-60.
- [17] CHO S W, KIM H K, KIM B S, et al. Combinatory Effect of Ethyl Formate and Phosphine Fumigation on *Pseudococcus longispinus* and *P. orchidicola* (Hemiptera: Pseudococcidae) Mortality and Phytotoxicity to 13 Foliage Nursery Plants [J]. Journal of Asia-Pacific Entomology, 2020, 23(1): 152-158.
- [18] KYUNG Y, KIM H K, CHO S W, et al. Comparison of the Efficacy and Phytotoxicity of Phosphine and Ethyl Formate for Controlling *Pseudococcus longispinus* (Hemiptera: Pseudococcidae) and *Pseudococcus orchidicola* on Imported Foliage Nursery Plants [J]. Journal of Economic Entomology, 2019, 112(5): 2149-2156.
- [19] 徐国淦, 王跃进, 蔡悦, 等. 溴甲烷、二硫化碳熏蒸处理对苹果蠹蛾的效果及水果安全范围的研究 [J]. 植物保护学报, 1989, 16(1): 61-66.
- [20] 杨胜华, 王亚南, 徐小珠. 二硫化碳与四氯化碳混合熏蒸防治谷蠹试验 [J]. 粮食储藏, 2001, 30(5): 17-19.
- [21] 叶炳元, 栗克森. 溴甲烷硫酰氟二硫化碳熏蒸苗木杀虫试验简报 [J]. 植物检疫, 1997, 11(4): 217-218.
- [22] 陈寿铃. 二硫化碳熏蒸处理牧草种子害虫及种子安全性研究 [J]. 植物检疫, 1989, 3(5): 334-335.
- [23] 薛承坤. 二硫化碳熏蒸巢脾的方法 [J]. 养蜂科技, 1996(4): 34.
- [24] 四川省仁寿县粮食局, 四川省仁寿县文公区粮站, 四川省粮食局科学研究所. 二硫化碳防治红苕贮藏病害的研究 [J]. 四川粮油科技, 1973, 2(2): 7-16.
- [25] 王跃进. 中国植物检疫处理手册 [M]. 北京: 科学出版社, 2014: 58-59.
- [26] 赵娜娜, 麦迪娜·托乎塔森, 卢若滨. 12 种植物精油对两种仓储害虫熏蒸活性的研究 [J]. 中国粮油学报, 2020, 35(8): 128-133.
- [27] 单常尧, 曹阳, 陈鑫, 等. 储粮害虫磷化氢抗性检测设备及应用研究 [J]. 中国粮油学报, 2020, 35(5): 152-158.
- [28] 刘蔓文, 王亚洲, 唐培安, 等. 增效醚对不同品系赤拟谷盗 P450 酶活性的影响及对磷化氢的增效作用研究 [J]. 粮食科技与经济, 2019, 44(2): 74-78.
- [29] 段锦艳, 吴海晶, 唐培安, 等. 8 个品系锈赤扁谷盗和谷蠹的磷化氢抗性测定 [J]. 粮食储藏, 2016, 45(1): 1-4.

- [30] 武磊,李路莎,王立颖,等. 没食子酸对美国白蛾幼虫营养效应及解毒酶活性的影响 [J]. 环境昆虫学报, 2020, 42(2): 471-479.
- [31] BRADFORD M M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding [J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72(1-2): 248-254.
- [32] 张凡华,刘涛,李丽,等. 低温条件下磷化氢熏蒸对玫瑰采后品质的影响 [J]. 植物检疫, 2011, 25(6): 1-4.
- [33] PIMENTEL M A G, FARONI L R D, SILVA F H, et al. Spread of Phosphine Resistance among Brazilian Populations of Three Species of Stored Product Insects [J]. Neotropical Entomology, 2010, 39(1): 101-107.
- [34] KAUR R, SUBBARAYALU M, JAGADEESAN R, et al. Phosphine Resistance in India is Characterised by a Dihydro-lipoamide Dehydrogenase Variant that is Otherwise Unobserved in Eukaryotes [J]. Heredity, 2015, 115(3): 188-94.
- [35] SOUSA A H, FARONI L R D, GUEDES R N C, et al. Ozone as a Management Alternative Against Phosphine-Resistant Insect Pests of Stored Products [J]. Journal of Stored Products Research, 2008, 44(4): 379-385.
- [36] SHAAYA E, KOSTYUKOVSKY M. Alternative Fumigants to Methyl Bromide for the Control of Pest Infestation in Grain and Dry Food Products [J]. Julius-Kühn-Archiv, 2010, 425: 433-437.
- [37] 唐培安,邓永学,王进军,等. 甲酸乙酯对赤拟谷盗不同虫态的熏蒸活性研究 [J]. 西南农业大学学报(自然科学版), 2006, 28(1): 61-65.
- [38] PRICE N R. The Effect of Phosphine on Respiration and Mitochondrial Oxidation in Susceptible and Resistant Strains of *Rhyzopertha dominica* [J]. Insect Biochemistry, 1980, 10(1): 65-71.
- [39] HUANG Y, LI F F, LIU M W, et al. Susceptibility of Tribolium Castaneum to Phosphine in China and Functions of Cytochrome P450s in Phosphine Resistance [J]. Journal of Pest Science, 2019, 92(3): 1239-1248.
- [40] 徐丽. 甲酸乙酯对重要储粮害虫熏蒸作用及其对害虫两种酶的影响 [D]. 武汉: 武汉工业学院, 2010.
- [41] OPIT G P, THOMS E, PHILLIPS T W, et al. Effectiveness of Sulfuryl Fluoride Fumigation for the Control of Phosphine-Resistant Grain Insects Infesting Stored Wheat [J]. Journal of Economic Entomology, 2016, 109(2): 930-941.
- [42] DESMARCHELIER J M. Ethyl Formate and Formic Acid: Occurrence and Environmental Fate. Postharvest News and Information, 1999, 10: 7-12.
- [43] SIMPSON T, BIKOBA V, TIPPING C, et al. Ethyl Formate as a Postharvest Fumigant for Selected Pests of Table Grapes [J]. Journal of Economic Entomology, 2007, 100(4): 1084-1090.
- [44] REN Y L, MAHON D. Fumigation Trials on the Application of Ethyl Formate to Wheat, Split Faba Beans and Sorghum in Small Metal Bins [J]. Journal of Stored Products Research, 2006, 42(3): 277-289.
- [45] VAN EPENHUIJSEN C W, HEDDERLEY D I, SOMERFIELD K G, et al. Efficacy of Ethyl Formate and Ethyl Acetate for the Control of Onion Thrips (*Thrips tabaci*) [J]. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 2007, 35(2): 267-274.
- [46] STEWART J K, MON T R. Commercial-Scale Vacuum Fumigation with Ethyl Formate for Postharvest Control of the Green Peach Aphid (*Homoptera: Aphididae*) on Film-Wrapped Lettuce [J]. Journal of Economic Entomology, 1984, 77(3): 569-573.
- [47] WELLER G L, VAN S GRAVER J E. Cut Flower Disinfestation: Assessment of Replacement Fumigants for Methyl Bromide [J]. Postharvest Biology and Technology, 1998, 14(3): 325-333.