

氮气处理对赤拟谷盗生理生化反应的影响

刘思琦, 吕建华^{*}, 许俊亚, 白春启, 白月亮, 赵超

(河南工业大学粮食和物资储备学院粮食储藏安全河南省协同创新中心, 河南郑州 450001)

摘要: 为明确不同体积分数氮气对赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* 生理生化反应的影响, 本文在 $28\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、 $75\pm 5\%$ RH、不同体积分数 (78% (大气压下作为对照)、90%、95%、98%) 氮气、不同处理时间 (2、4、6、8 d) 条件下研究了赤拟谷盗幼虫和成虫体内总超氧化物歧化酶 (SOD) 活性、过氧化物酶 (POD) 活性、过氧化氢酶 (CAT) 活性、总抗氧化能力 (T-AOC) 和乳酸 (LD) 含量等生理生化指标的变化规律。研究表明, 随氮气体积分数增加, 赤拟谷盗幼虫和成虫体内 SOD、POD 和 CAT 活性均在处理时间为 8 d 时响应速度最快, 在氮气体积分数为 98% 处理 8 d 时赤拟谷盗幼虫和成虫体内 SOD、POD 和 CAT 活性全部降为 0, 赤拟谷盗全部死亡。赤拟谷盗幼虫体内 T-AOC 值随氮气体积分数增加, 在处理时间为 6 d 和 8 d 时响应速度最快, 在氮气体积分数为 98% 处理 6 d 和 8 d 时赤拟谷盗幼虫体内 T-AOC 值降为 0; 赤拟谷盗成虫体内 T-AOC 值在处理时间为 8 d 时响应速度最快, 在氮气体积分数为 98% 处理 8 d 时赤拟谷盗幼虫体内 T-AOC 值降为 0。赤拟谷盗幼虫体内 LD 含量随氮气体积分数增加, 在处理时间为 6 d 和 8 d 时响应速度最快, 在氮气体积分数为 98% 处理 6 d 和 8 d 时赤拟谷盗幼虫体内 LD 含量降为 0; 赤拟谷盗成虫体内 LD 含量在处理时间为 8 d 时响应速度最快, 在氮气体积分数为 98% 处理 8 d 时赤拟谷盗成虫体内 LD 含量降为 0。

关键词: 充氮气调; 生理生化反应; 赤拟谷盗

中图分类号: 文献标识码:

Effects of Modified Atmosphere with Nitrogen on Physiological and Biochemical Responses of *Tribolium castaneum*

LIU Si-Qi, LV Jian-Hua, XU Jun-Ya, BAI Chun-Qi, BAI Yue-Liang, ZHAO Chao (Henan Collaborative Innovation Center for Grain Storage Security, School of Food and Strategic

1 基金项目: “十四五”国家重点研发计划项目 (项目编号 2021YFD2100604)

收稿日期:

第一作者, 刘思琦, 女, 2000 年出生, 硕士, 研究方向为储粮害虫综合治理及储粮品质控制

*通信作者, 吕建华, 男, 1971 年出生, 教授, 研究方向为储粮害虫综合治理及储粮品质控制

Reserves, Henan University of Technology, Zhengzhou, Henan, 450001, China)

Abstract: In order to determine the effects of different nitrogen volume fractions on physiological and biochemical responses of *Tribolium castaneum*, the changes of total superoxide dismutase (SOD) activity, peroxidase (POD) activity, catalase (CAT) activity, total antioxidant capacity (T-AOC) and lactic acid (LD) content in larvae and adults of *T. castaneum* were investigated at (28±1) °C, (75±5) % RH, nitrogen volume fractions of (78% (atmospheric pressure as the control), 90%, 95%, and 98%), different treatment time (2, 4, 6, and 8 d). The results showed that with the increase of nitrogen volume fraction, SOD, POD and CAT activities in the larvae and adults of *T. castaneum* were the fastest when the treatment time was 8 days, and the activities of SOD, POD and CAT in the larvae and adults decreased to 0 when the nitrogen volume fraction was 98% for 8 d, and all the larvae and adults died. The T-AOC value in the larvae increased with increasing nitrogen volume fraction, and the response rate was the fastest at 6 and 8 d, while the T-AOC value decreased to 0 when the nitrogen volume fraction was 98% at 6 and 8 d. The response rate of T-AOC in adult larvae was the highest when the treatment time was 8 d, and the T-AOC decreased to 0 when the nitrogen volume fraction was 98% for 8 d. The LD content in the larvae increased with increasing nitrogen volume fraction, and the response rate was the fastest at 6 and 8 d, while the LD content in the larvae decreased to 0 at 6 and 8 d when the nitrogen volume fraction was 98%. The response rate of LD content was the fastest when the treatment time was 8 d, and the LD content decreased to 0 when the nitrogen volume fraction was 98% for 8 d.

Key words: modified atmosphere with nitrogen; physiological and biochemical response; *Tribolium castaneum*

粮民事关国计民生，粮食安全是国家安全的重要基础。我国是农业大国，粮食总产量位居世界第一 (Wang *et al.*, 2018)。但由于我国人口众多，人均拥有粮食数量在世界上的排名较为落后。因此，粮食储藏安全一直是我国党和政府高度关注的重要问题 (李立军, 2021)。粮食在储藏过程中时常因储粮害虫的为害造成严重损失。据报道，储粮害虫为害造成的损失占全世界粮食重量的 10%~40% (López-Castillo *et al.*, 2018; 吕建华等, 2020; 许德刚和李凡, 2021)

赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* 属于鞘翅目 Coleoptera 拟步甲科 Tenebrionidae，是一种重要的世界性储粮害虫 (Guo *et al.*, 2019; Dissanayaka *et al.*, 2020)。因其寿命长、食性杂、适

应能力强等特点,经常出现在粮食储藏和加工场所,既可为害各种面粉及面制品,也可为害中药材、酒曲、坚果、谷物、油脂等(张生芳等,1998;白旭光,2008;许德刚和李凡,2021)。赤拟谷盗危害时常造成粮食数量损失,同时其成虫体表上臭腺分泌的苯醌类物质可导致粮食产生腥霉臭气、变色、结块,引起粮食品质劣变(Jian *et al.*, 2016; Kharel *et al.*, 2020; Kaidi *et al.*, 2021)。目前世界上主要采用磷化氢熏蒸等化学方式防治赤拟谷盗,但长期单一使用化学药剂已导致其抗药性增强、农药残留、环境污染等问题(Ghimire *et al.*, 2016)。因此,如何绿色高效防控储粮害虫对安全储粮至关重要(Ingegno and Tavella, 2022)。在此背景下,氮气气调作为一种安全高效、经济环保的杀虫技术逐渐得到人们的高度重视。

昆虫的生命活动需要各种酶的参与。其中总超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)是储粮害虫体内防御氧化损伤的3种重要保护酶,主要用来抵御逆境环境中产生的多余氧自由基,维持体内自由基代谢平衡。活性氧(ROS)的大量出现会对脂质、蛋白质等大分子物质造成损伤(Moloi and Westhuizen, 2008; Rajkumar *et al.*, 2019; Mittler, 2017)。在储粮害虫受到逆境胁迫或受伤时,体内ROS水平会增高,从而影响储粮害虫正常生长发育,严重时还可导致细胞凋亡(赵崇飞等,2023)。但在正常机体内,储粮害虫会依赖抗氧化酶系来消除组织中积累的ROS(Lu *et al.*, 2017)。昆虫在无氧条件下糖酵解过程中会产生乳酸(LD),其为关键的能量载体(周思旭等,2009)。因此,本文以赤拟谷盗为研究对象,在78%、90%、95%、98%氮气体积分数下处理不同时间测定其幼虫和成虫体内总超氧化物歧化酶活性、过氧化物酶活性、过氧化氢酶活性、总抗氧化能力、和乳酸含量等指标的变化规律,为从生理生化的角度阐明不同体积分数氮气处理下赤拟谷盗的应激反应及其适应机制提供科学信息。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

试验所用赤拟谷盗已在河南工业大学储粮害虫防治实验室人工纯化饲养3代以上。赤拟谷盗饲养于温度 $28\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、 $75\pm 5\%\text{RH}$ 、黑暗条件下的培养箱内,以全麦粉(过80目筛)与酵母按19:1(重量比)混合后作为饲料。

1.2 仪器设备

生化培养箱:SPX-250BX型,北京市永光明医疗仪器有限公司;电热恒温鼓风干燥箱:GF101型,鹤壁市冶金机械设备有限公司;冰箱:BCD-500WLHTD78SMU1,海尔智家股

份有限公司；电子天平：FA1004B，青岛聚创环保集团有限公司；高速台式离心机：TG18G型，青岛精诚仪器仪表有限公司；酶标仪：RT-6000型，深圳雷杜科学股份有限公司；组织研磨仪：Tis-24型，上海净信实业发展有限公司；紫外可见分光光度计：SH-6600型，江苏盛奥华环保科技有限公司；移液枪：KD144-10ml，东方化玻（北京）科技有限公司；气体检测仪：GT-1000-2LM型，深圳市科尔诺电子科技有限公司；人工气调箱：600×350×400 mm，陕西三匠亚克力实验仪器有限公司；温湿度计：MBS-6003i型，开化云联智能科技有限公司。

其他试验用品包括滤纸、培养皿、培养瓶、解剖针、小毛笔、镊子、漏斗、剪刀等。

1.3 主要试剂

氮气：纯度 $\geq 99.9996\%$ ，河南源正特种气体有限公司；总超氧化物歧化酶（SOD）测定试剂盒、过氧化物酶（POD）测定试剂盒、过氧化氢酶（CAT）测定试剂盒、总抗氧化能力（T-AOC）测定试剂盒和乳酸（LD）测定试剂盒：南京建成生物工程研究所。

1.4 试验装置

试验在4个600 mm×350 mm×400 mm、84 L的亚克力板材质人工密封气调箱内进行（图1）。气调箱两侧分别设有进气口、出气口与相应的阀门，分别连接氮气气泵（纯度 $\geq 99.9996\%$ ，河南源正特种气体有限公司）和固定式氮气检测仪（GT-1000-2LM型，深圳市科尔诺电子科技有限公司，测量范围：0~100%，精度：0.1%）。箱体一侧设两个密闭乳胶手套操作口，用于实验操作；箱体另一侧设1直径100 mm、长200 mm圆柱管制成的取虫缓冲仓，其两端可螺旋盖密闭，用于虫笼放置、取样等。气调箱内设饱和食盐水以调节湿度水平维持在 $75\pm 5\%RH$ ，并使用小米米家电子智能温湿度计监测记录气调箱内的温湿度。气调箱使用前测定气密性正压500 Pa半衰期大于120 s。用高纯氮气瓶中的氮气冲洗气调箱内空气，直到气调箱内的氮气含量达到设定值，随后每天监测2次氮气含量，确保氮气浓度稳定。

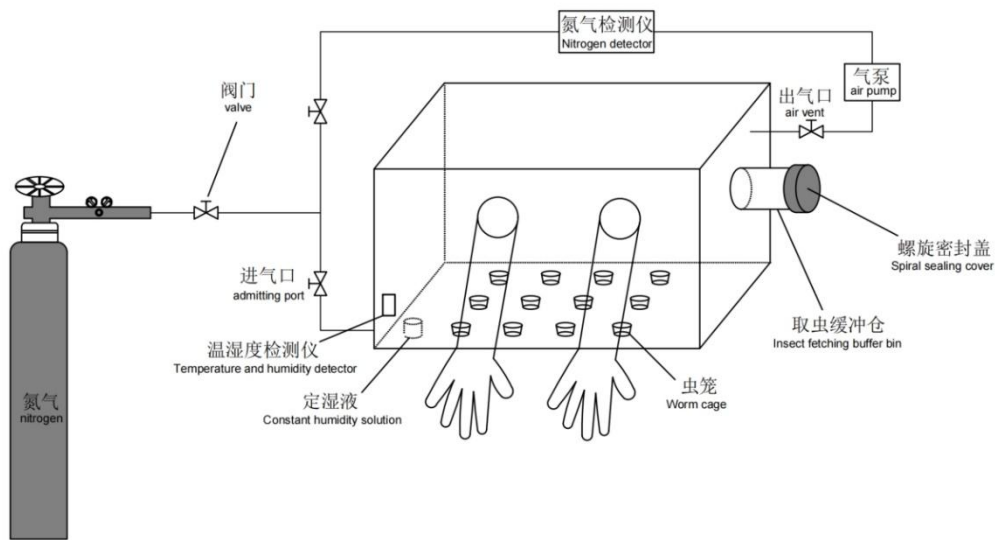


图 1. 充氮气调装置示意图

Fig 1. Schematic diagram of the nitrogen charging and regulating device

1.5 试验方法

1.5.1 样品准备

设置温度 $28 \pm 1^\circ\text{C}$ 、 $70 \pm 5\% \text{RH}$ ，分别取赤拟谷盗幼虫（18 日龄）和成虫（羽化 7~14 d）置于不同体积分数氮气（以正常大气环境中氮气体积分数 78% 为对照，90%、95%、98%）环境中处理不同时间（2、4、6、8 d）后测定其总超氧化物歧化酶活性、过氧化物酶活性、过氧化氢酶活性、总抗氧化能力和乳酸含量的变化，明确不同体积分数氮气处理对赤拟谷盗幼虫和成虫生理生化指标的影响。每个处理重复 3 次。

1.5.2 粗酶液制备

称取处理过后的赤拟谷盗幼虫、成虫数头作为样本，用小毛笔沾生理盐水将其表面杂物清理干净，随后将其放入 5 mL 离心管中，按赤拟谷盗重量（g）：生理盐水体积（mL）为 1:9 比例加入一定量生理盐水，加入直径为 5 mm 小钢珠，将离心管放入研磨仪中研磨 3 min，在冰水浴中进行机械匀浆后制成 10% 组织匀浆，待完全研磨后在 4°C 冷冻离心机中以 2500 转/min 离心 10 min，取出离心管中的上清液待测。根据不同酶活力所需浓度不同，再用生理盐水稀释至最佳浓度。

1.5.3 总超氧化物歧化酶（SOD）活力的测定

SOD 的活性单位定义为每 mg 组织蛋白在 10 μL 反应液中 SOD 抑制率达到 50% 时所对应的 SOD 量。SOD 活力的测定采用总超氧化物歧化酶测定试剂盒(货号 A001-3, WST-1 法)，

具体操作按照试剂盒说明书。

1.5.4 过氧化物酶（POD）活力的测定

POD 的活性单位定义为 37°C 条件下，每 mg 组织蛋白每 min 催化产生 1.0 μg 底物的酶量。POD 活力的测定采用过氧化物测定试剂盒(货号 A084-1，比色法)，具体操作按照试剂盒说明书。

1.5.5 过氧化氢酶（CAT）活力的测定

CAT 活性单位定义为每 mg 组织蛋白每秒钟分解 1.0 μmol 的 H₂O₂ 的量。CAT 活力的测定采用过氧化氢酶测定试剂盒(货号 A007-1，钼酸铵法)，具体操作按照试剂盒说明书。

1.5.6 总抗氧化能力（T-AOC）的测定

T-AOC 单位定义为在 37°C 时，每 mg 组织蛋白在每 min 内使反应体系的 OD 值增加 0.01 为一个总抗氧化能力的单位 U。T-AOC 变化的测定采用总抗氧化能力测定试剂盒（货号 A015-3，FRAP 法），具体操作按照试剂盒说明书。

1.5.7 乳酸（LD）含量的测定

LD 含量变化的测定采用乳酸测定试剂盒（货号 A019-2，比色法）。

1.6 数据处理

首先采用 Microsoft Excel 2021、Microsoft Word 对实验数据进行统计处理，然后使用 IBM SPSS Statistics 26 中单因素方差分析（One way ANOVA）和 Tukey 多重比较检验评估处理间的差异显著性（ $P < 0.05$ ）。

2 结果与分析

2.1 氮气处理对赤拟谷盗体内抗氧化酶系（SOD、POD、CAT）活性的影响

赤拟谷盗幼虫在不同体积分数氮气处理后体内 SOD（图2）、POD（图4）、CAT（图6）随着氮气体积分数增加，在处理 2 d 时，体内 SOD 和 POD 活性先降低后升高；而体内 CAT 活性逐渐降低。在处理 4 d 时，体内 SOD 活性先降低后升高再降低；体内 POD 活性逐渐降低；而体内 CAT 活性逐渐升高。在处理 6 d 和 8 d 时，体内 SOD 与 CAT 活性均呈现出先降低后升高再降低的趋势。氮气体积分数为 98% 的情况下，赤拟谷盗幼虫在处理 2 d 时体内 SOD 活性比处理 4 d 时体内 SOD 活性更高；在处理 6 d 时体内 POD 活性比处理 2 d 和 4 d 时体内 POD 活性更高；在处理 2 d 时体内 CAT 活性比处理 4 d 时体内 CAT 活性更高；处理 6 d 和 8 d 时体内 SOD、POD 和 CAT 活性都降为 0，此时氮气处理条件抑制了 SOD、POD 和 CAT 活性，在该处理下赤拟谷盗幼虫死亡。

赤拟谷盗成虫在不同体积分数氮气处理后体内SOD（图3）、POD（图5）、CAT（图7）随着氮气体积分数增加，在处理2 d时，体内SOD、POD和CAT活性先上升再下降；在处理4 d时，体内SOD和POD活性先上升再下降，而体内CAT活性呈先下降再升高后下降的趋势；在处理6 d和8 d时，体内SOD、POD与CAT活性均呈现出先降低后升高再降低的趋势。氮气体积分数为98%的情况下，赤拟谷盗成虫在处理2 d时体内SOD活性比处理4 d和6 d时体内SOD活性更高；在处理2 d时体内POD活性比处理4 d时体内POD活性更高；在处理2 d时体内CAT活性比处理4 d和6 d时体内CAT活性更高；处理6 d和8 d时体内SOD和CAT活性与处理8 d时POD活性都降为0，此时氮气处理条件抑制了SOD、POD和CAT活性，在该处理下赤拟谷盗成虫死亡。该结果表明，氮气体积分数越高对赤拟谷盗幼虫和成虫胁迫能力更好，害虫死亡更快。

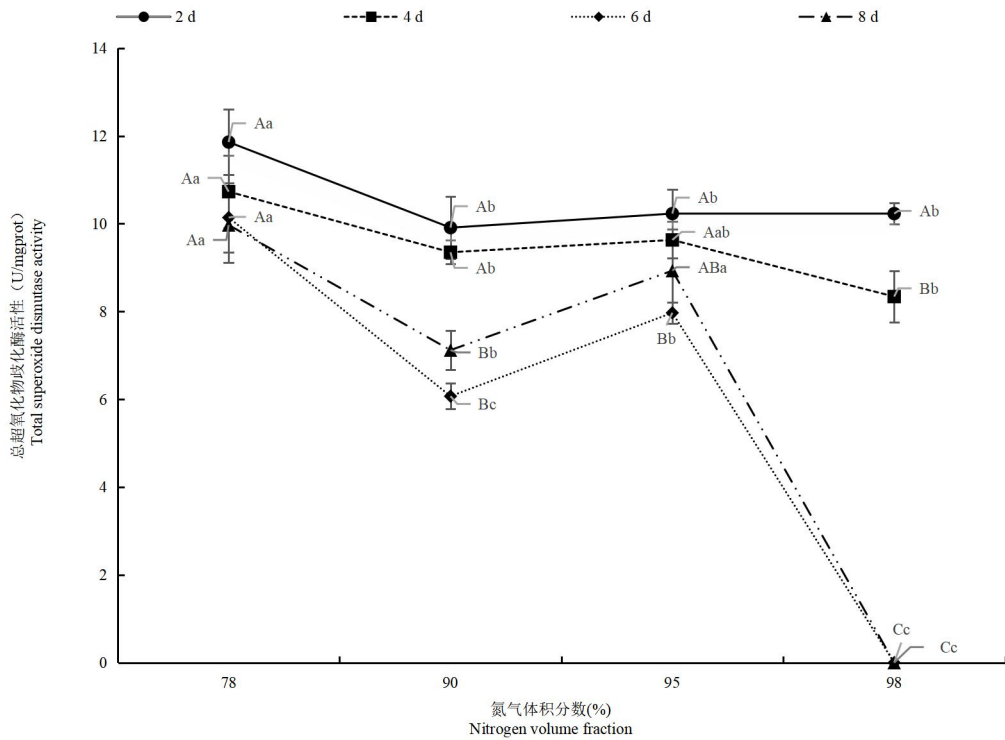


图2 赤拟谷盗幼虫经历不同体积分数氮气处理后体内总超氧化物酶活性变化情况
 Fig.2 Changes of SOD activity in *Tribolium castaneum* larva after nitrogen treatment with different volume fractions

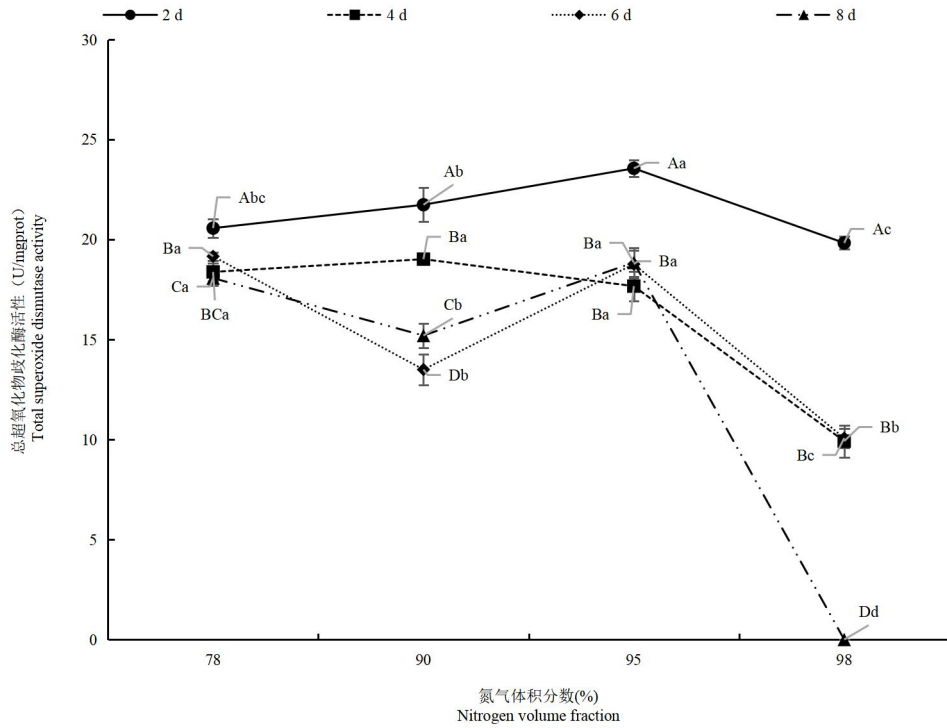


图3 赤拟谷盗成虫经历不同体积分数氮气处理后体内总超氧化物酶活性变化情况
 Fig.3 Changes of SOD activity in *Tribolium castaneum* adult after nitrogen treatment with different volume fractions

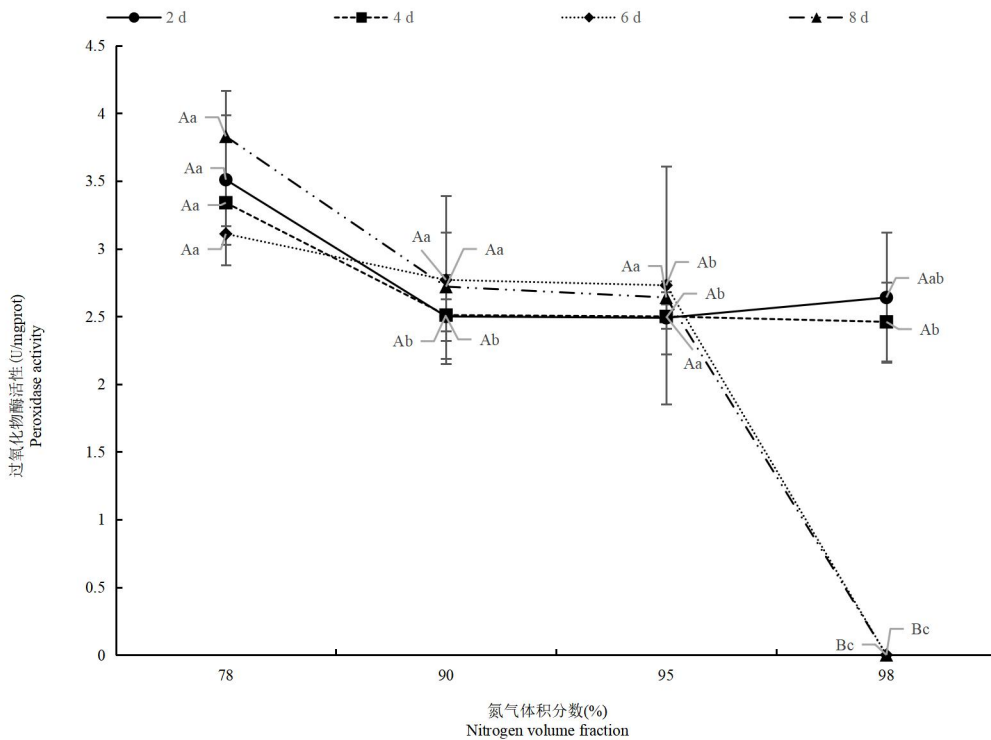


图4 赤拟谷盗幼虫经历不同体积分数氮气处理后体内过氧化物酶活性的变化情况

Fig.4 Changes of POD activity in *Tribolium castaneum* larva after nitrogen treatment with different volume fractions

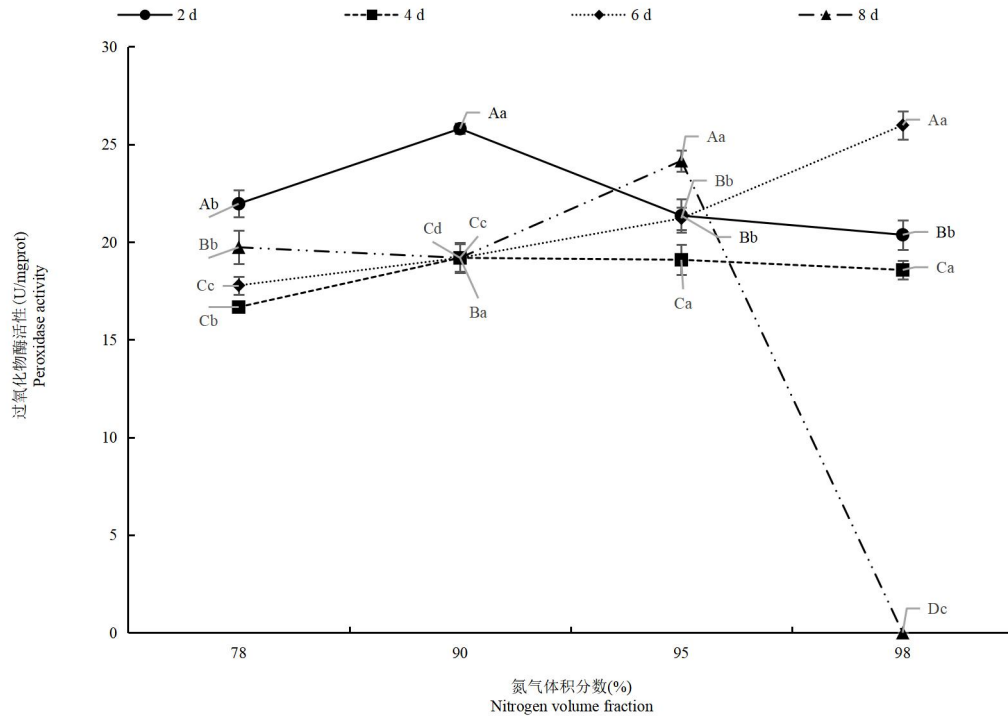


图5 赤拟谷盗成虫经历不同体积分数氮气处理后体内过氧化物酶活性的变化情况

Fig.5 Changes of POD activity in *Tribolium castaneum* adult after nitrogen treatment with different volume fractions

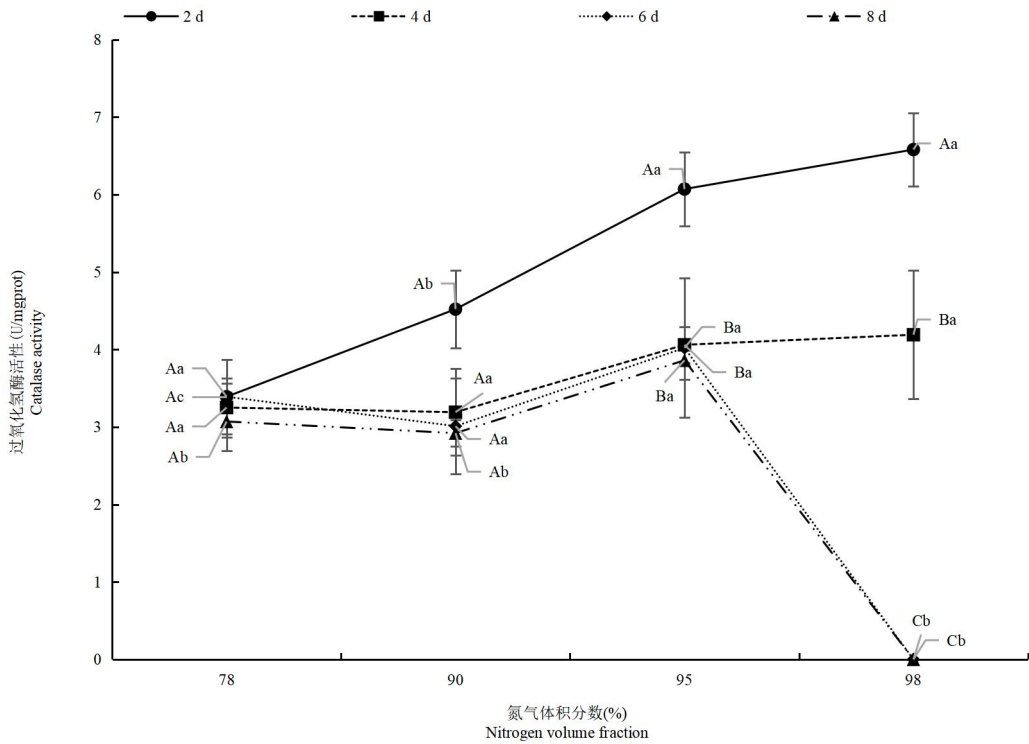


图6 赤拟谷盗幼虫经历不同体积分数氮气处理后体内过氧化氢酶活力的变化情况

Fig.6 Changes of CAT activity in *Tribolium castaneum* larva after nitrogen treatment with different volume fractions

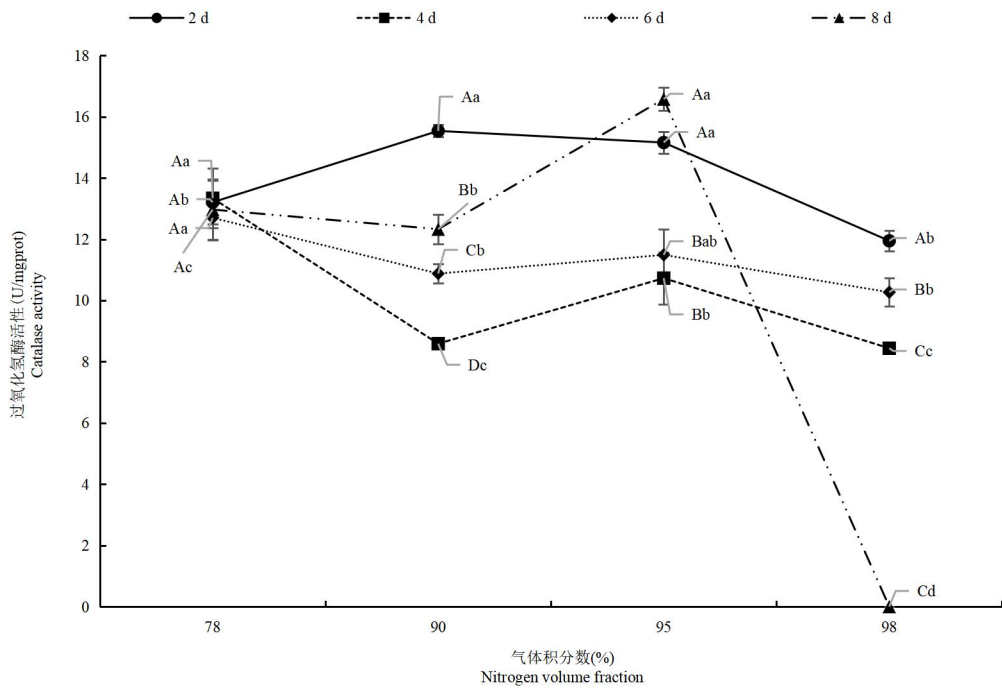


图7 赤拟谷盗成虫经历不同体积分数氮气处理后体内过氧化氢酶活力的变化情况

Fig.7 Changes of CAT activity in *Tribolium castaneum* adult after nitrogen treatment with different volume fractions

2.2 氮气处理对赤拟谷盗体内总抗氧化能力的影响

赤拟谷盗幼虫在不同体积分数氮气处理后体内 T-AOC 值（图 8）随氮气体积分数增加，在处理 2 d 和 4 d 时，体内 T-AOC 值先下降再上升；在处理 6 d 时，体内 T-AOC 值呈现出先下降后升高再下降的趋势；在处理 8 d 时，体内 T-AOC 值先上升再下降。氮气体积分数为 98% 的情况下，赤拟谷盗幼虫在处理 4 d 时体内 T-AOC 值比处理 2 d 时更高；处理 6 d 和 8 d 时体内 T-AOC 值降为 0，赤拟谷盗幼虫死亡。

赤拟谷盗成虫在不同体积分数氮气处理后体内 T-AOC 值（图 9）随氮气体积分数增加，在处理 2 d 时，体内 T-AOC 值先升高后降低再升高；在处理 4 d 时，体内 T-AOC 值下降后升高。在处理 6 d 时，体内 T-AOC 值逐渐升高；在处理 8 d 时，体内 T-AOC 值升高后下降。当氮气体积分数为 98% 时，赤拟谷盗成虫在处理 6 d 时体内 T-AOC 值比处理 2 d 和 4 d 时更高；处理 8 d 时体内 T-AOC 值降为 0，赤拟谷盗成虫死亡。

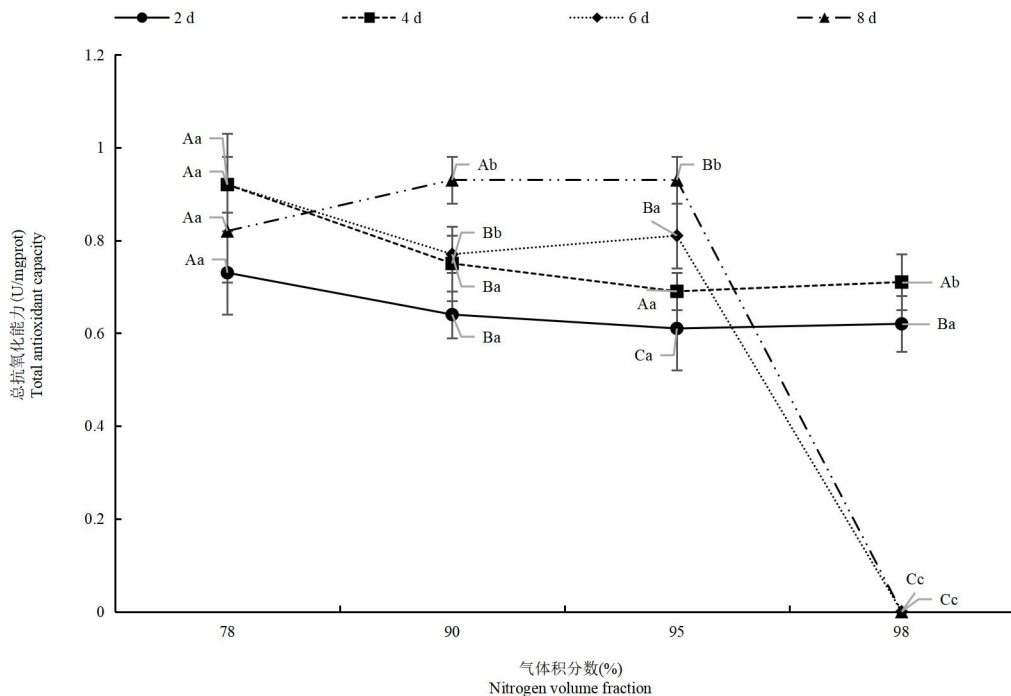


图 8 赤拟谷盗幼虫经历不同体积分数氮气处理后体内总抗氧化能力的变化情况

Fig.8 Changes of total antioxidant capacity in *Tribolium castaneum* larva after nitrogen treatment with different volume fractions

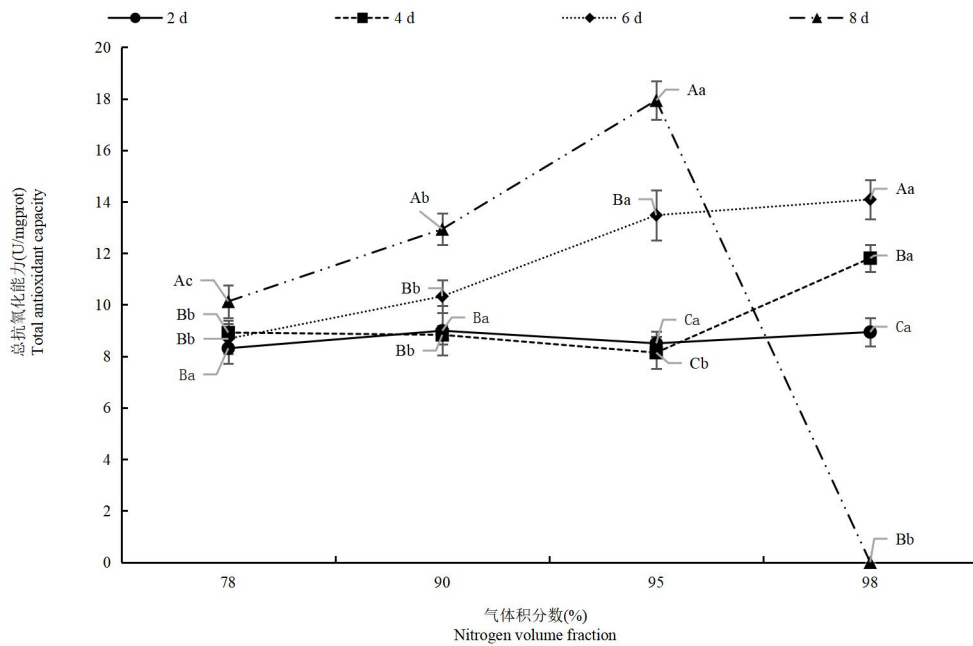


图 9 赤拟谷盗成虫经历不同体积分数氮气处理后体内总抗氧化能力的变化情况

Fig.9 Changes of total antioxidant capacity in *Tribolium castaneum* adult after nitrogen treatment with different volume fractions

2.3 氮气处理对赤拟谷盗体内乳酸含量的影响

赤拟谷盗在幼虫不同体积分数氮气处理后体内 LD 含量（图 10）随氮气体积分数增加，在处理 2 d 时，体内 LD 含量先下降再上升；在处理 4 d、6 d 和 8 d 时，体内 LD 含量均呈现出逐渐下降的趋势。氮气体积分数为 98% 的情况下，赤拟谷盗幼虫在处理 4 d 时体内 LD 含量比处理 2 d 时更高；处理 6 d 和 8 d 时体内 LD 含量降为 0，赤拟谷盗幼虫死亡。

赤拟谷盗在成虫不同体积分数氮气处理后体内 LD 含量（图 11）随氮气体积分数增加，在处理 2 d、4 d 和 6 d 时，体内 LD 含量均呈逐渐上升的趋势。在处理 8 d 时，体内 LD 含量先升高再下降，当氮气体积分数为 98% 时，赤拟谷盗成虫在处理 6 d 时体内 LD 含量比处理 2 d 和 4 d 时更高；处理 8 d 时体内 LD 含量降为 0，赤拟谷盗成虫死亡。

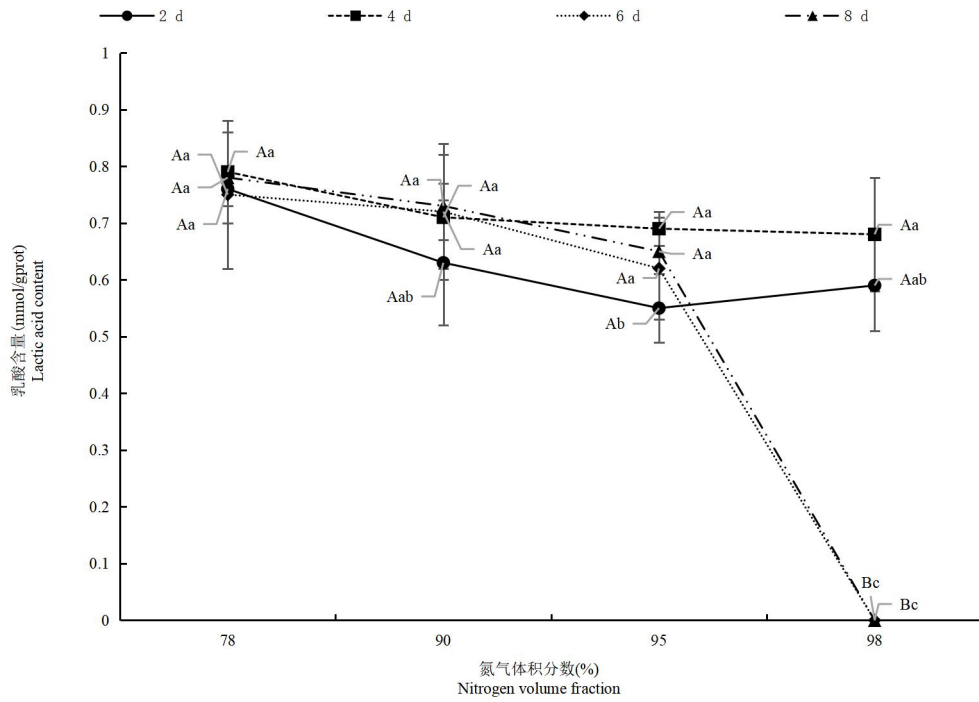


图10 赤拟谷盗幼虫经历不同体积分数氮气处理后体内乳酸含量的变化情况

Fig.10 Changes of lactic acid in *Tribolium castaneum* larva after nitrogen treatment with different volume fractions

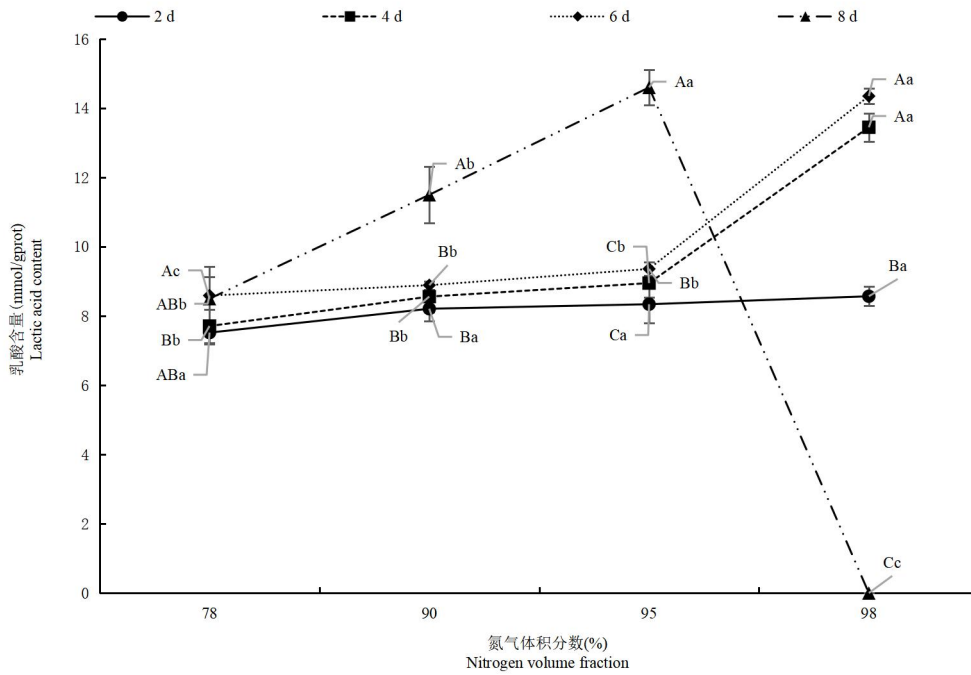


图 11 赤拟谷盗成虫经历不同体积分数氮气处理后体内乳酸含量的变化情况

Fig.11 Changes of lactic acid in *Tribolium castaneum* adult after nitrogen treatment with

3 结论与讨论

氧气浓度直接影响昆虫的代谢水平和能量消耗。赤拟谷盗通过有氧呼吸产生 ATP 为生命活动提供能量。当氧气供应不足时，其呼吸代谢受阻，减少 ATP 的合成，影响其正常生长发育，甚至导致其死亡 (Boyer *et al.*, 2011)。

赤拟谷盗在氮气气调处理条件下产生过量的 ROS，而氮气体积分数的变化与赤拟谷盗体内 ROS 水平、抗氧化能力等密切相关。赤拟谷盗抗氧化酶活性增加表明其体内具有较强的抗氧化应激能力 (2020)。赵崇飞和胡威 (2002) 报道在昆虫受伤或遭受逆境胁迫时，其体内 ROS 水平会迅速上升，影响昆虫正常的生长发育，甚至导致细胞凋亡。鲁玉杰等 (2023) 报道，在低氧条件下，随氧气体积分数的降低，赤拟谷盗幼虫体内 SOD、POD 和 CAT 活性均显著升高。刘凯 (2023) 研究表明，锈赤扁谷盗体内 SOD、POD 和 CAT 活性均在低氧条件下随处理时间延长呈先上升后下降的趋势，POD 和 CAT 活性均在低氧处理 2 d 时达到最大值。苗世远 (2023) 研究表明，在低氧状态下，嗜虫书虱体内 SOD、POD 和 CAT 活性都随低氧处理时间延长而上升。本试验结果与其研究结果相似，氮气体积分数为 98% 的情况下，处理 6 d 和 8 d 时赤拟谷盗体内 SOD、POD 和 CAT 活性均降为 0。当不同虫态的赤拟谷盗在高浓度氮气处理条件下，其抗氧化酶活性的变化程度可反映出其各虫态对低氧处理的敏感程度。

在氮气处理条件下，赤拟谷盗幼虫和成虫体内的 T-AOC 含量变化不一致。苗世远 (2023) 研究发现在低氧状态下，嗜虫书虱体内 T-AOC 变化不明显，仅出现轻微波动。本试验结果与其相似。刘凯 (2023) 证明锈赤扁谷盗体内的乳酸含量随低氧胁迫时间的延长表现出先升高后降低的趋势，在处理 2 d 时达到最大值。随低氧处理条件时间的增加，锈赤扁谷盗体内 LD 含量增加，最终导致锈赤扁谷盗死亡。Kölsch 等 (2002) 发现，随低氧处理时间增加，过高浓度的 LD 堆积会抑制糖酵解发生，使得害虫体内 LD 含量增加速度减慢。周思旭等 (2009) 研究表明在低氧状态下，赤拟谷盗幼虫和成虫体内 LD 含量都增加，但成虫体内 LD 含量增加速度低于幼虫体内增加速度，在 O₂ 体积分数为 2% 时赤拟谷盗体内乳酸含量达到最高。本试验结果也与其相似。

目前，氮气气调防治储粮害虫在我国实际生产中已经被广泛应用 (李丹丹等, 2015; 王西林等, 2018)。已有研究表明，氮气气调对储粮害虫有较为明显的抑制作用，但是现在应用到生产中的充氮时间一般较长 (张来林等, 2012)。我国行业标准 LS/T 1225-2022 《氮

气气调储粮技术规程》规定，在粮食储藏期内维持氮气浓度不低于 95%进行气调防虫；维持整仓平均氮气浓度不 98%，持续时间不少于 28 d 进行气调杀虫。在实践中，一些仓储单位在每年 4 月份即开始进行气调防虫或杀虫，然后一种保持粮堆高氮气浓度状态到 10 月份。这样使粮食长期处于高氮气浓度环境下，会造成防虫杀虫投入较高。根据本研究结果，在氮气体积分数为 98%的情况下，害虫的抗氧化酶活性等生理生化指标即受到严重抑制，处理 8 d 后害虫即全部死亡。因此，我们在实际执行氮气气调杀虫时可通过改善仓房气密性、促进氮气在粮堆内快速均匀分布，并达到 98%氮气体积分数，实现快速杀虫。

参考文献(References)

Bai XG. Storage Pests and Control (2nd edition) [M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2008.[白旭光. 储藏物害虫与防治(第2版)[M]. 北京:科学出版社, 2008]

Boyer S, Zhang H, Lempérière G. A review of control methods and resistance mechanisms in stored-product insects [J]. *Bulletin of Entomological Research*, 2011, 102(2): 213-229.

Dissanayaka D, Sammani A, Wijayarathne L. Orientation of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) adults at various distances to different concentrations of aggregation pheromone 4, 8-dimethyldecanal [J]. *Journal of Stored Products Research*, 2020, 87

Fields P G, White N, et al. Alternatives to methyl bromide treatments for stored-product and quarantine insects [J]. *Annual Review of Entomology*, 2002, 47(1):

Ghimire NM, Arthur HF, Myers WS, et al. Residual efficacy of deltamethrin and β -cyfluthrin against *Trogoderma variabile* and *Trogoderma inclusum* (Coleoptera: Dermestidae) [J]. *Journal of Stored Products Research*, 2016, 666-11.

Guo S, Wang Y, Pang X, et al. Seven herbs against the stored product insect: Toxicity evidence and the active sesquiterpenes from *Atractylodes lancea* [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 169: 807-813.

Ingegno Barbara L., Tavella Luciana. Ozone gas treatment against three main pests of stored products by combination of different application parameters [J]. *Journal of Stored Products Research*, 2022, 95

Jian F, Doak S, Jayas SD, et al. Comparison of insect detection efficiency by different detection methods [J]. *Journal of Stored Products Research*, 2016, 69138-142.

Kaidi C, Lingyan Z, Leiming H, et al. Toxicological effects of the fungal volatile compound 1-octen-3-ol against the red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst) [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 208111597-.

Kharel K, Mason JL, Murdock LL, et al. Efficacy of hypoxia against *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) throughout ontogeny [J]. *Journal of Economic Entomology*, 2020, 112(3): 1463-1468.

Kölsch G, Jakobi K, Wegener G, et al. Energy metabolism and metabolic rate of the alder leaf beetle *Agelastica alni* (L.) (Coleoptera, Chrysomelidae) under aerobic and anaerobic conditions: a microcalorimetric study [J]. *Journal of Insect Physiology*, 2002, 48 (2): 143-151.

Li DD, Li HJ, Zhang ZX, et al. Progress in the R&D, promotion and application of nitrogen modified atmosphere grain storage in China [J]. *Liangyou cangchu keji tongxun*, 2015, 31 (05): 37-41. [李丹丹,李浩杰,张志雄,等. 我国氮气气调储粮研发和推广应用进展 [J]. 粮油仓储科技通讯, 2015, 31 (05): 37-41.]

Li LJ. The development thinking and policy suggestion of grain security in the new period [J]. *China Food Safety Magazine*, 2021(06): 10-11 [李立军. 新时期我国粮食安全保障的发展思路与政策建议[J]. 食品安全导刊, 2021(06):10-11]

Liu K. Research on Biological Response of Different Phosphine Resistant Strains of *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) to Hypoxia Stress[D]. Zhengzhou: Henan University of Technology Master Thesis, 2023. [刘凯. 不同磷化氢抗性锈赤扁谷盗对低氧胁迫的生物学响应研究 [D]. 郑州：河南工业大学硕士学位论文，2023]

López-Castillo M L, Silva-Fernández E S, Winkler R, et al. Postharvest insect resistance in maize [J]. *Journal of Stored Products Research*, 2018, 77

Lu Y, Bai Q, Zheng X, et al. Expression and enzyme activity of catalase in *Chilo suppressalis* (Lepidoptera: Crambidae) is responsive to environmental stresses [J]. *Journal of Economic Entomology*, 2017, 110(4):1803-1812.

Lu YJ, Yang L, Lu SH, et al. Effects of modified atmosphere with nitrogen on the control and antioxidant enzymes activities of *Tribolium castaneum* [J/OL]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 1-12 [鲁玉杰, 杨丽, 卢少华等. 氮气气调对赤拟谷盗的防治效果及抗氧化酶活性的影响 [J/OL]. 中国粮油学报, 1-12]

Lv JH, Huang ZW, Wang DX, et al. Research progress of pest detection methods in stored grain [J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2020, 35(11): 194-202 [吕建华, 黄宗文, 王殿轩等. 储粮害虫检测方法研究进展 [J]. 中国粮油学报, 2020, 35(11): 194-202]

Miao SY. Research on Adaptation Mechanism of Phosphine Resistant *Liposcelis entomophila* to Hypoxia Environment[D]. Zhengzhou: Henan University of Technology Master Thesis, 2022. [苗世远.磷化氢抗性嗜虫书虱对低氧胁迫适应性的分子机理研究 [D]. 郑州: 河南工业大学硕士学位论文, 2022]

Mittler R. ROS are good [J]. *Trends in Plant Science*, 2017, 22(1): 11-19.

Moloi MJ, van der Westhuizen AJ. Antioxidative enzymes and the Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*) resistance response in wheat (*Triticum aestivum*) [J]. *Plant biology (Stuttgart, Germany)*, 2008, 10(3): 403-7.

Qing ZM, Qing YT, Yu PG, et al. Antioxidant enzymes and heat shockprotein genes from *Liposcelis bostrychophila* are involved in stress defense upon heat shock. [J]. *Insects*, 2020, 11(12):

Rajkumar V, Gunasekaran C, Christy KI, et al. Toxicity, antifeedant and biochemical efficacy of *Mentha piperita* L. essential oil and their major constituents against stored grain pest [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2019, 156:138-144.

Wang J, Zhang Z, Liu Y. Spatial shifts in grain production increases in China and implications for food security [J]. *Land Use Policy*, 2018, 74:204-213.

Wang XL, Shi YL, Zhong WY, et al. The application of nitrogen filling under the membrane of the tall bungalow warehouse and the temperature control of the temperature storage of grain above the membrane [J]. *Liangyou Cangchu Keji Tongxun*, 2018, 34 (05): 37-41 [王西林, 施怡良, 钟武毅,等. 高大平房仓膜下充氮气调与膜上空调控温储粮实仓应用 [J]. 粮油仓储科技

通讯, 2018, 34 (05): 37-41]

Xu DG, Li F. Application of modern information technology in detection of stored grain pests [J].

Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2019, 36(03): 185-194 [许德刚, 李凡.

现代信息技术在储粮害虫检测中的应用 [J]. 中国粮油学报, 2021, 36(03): 185-194]

Zhang FS, Liu YP, Wu ZQ. Chinese Storage Beetle[M]. Beijing: China Agricultural Science and

Technology Press, 1998. [张生芳, 刘永平, 武增强. 中国储藏物甲虫[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1998]

Zhang LL, Gu ZY, Zhou JS, *et al.* Effects of Two Storage Ways on the Storage Quality of Three n Grains [C]. Chinese Cereals and Oils Association (CCOA), International Association for Cereal Science and Technology (ICC). Book of Abstracts of 14th ICC Cereal and Bread Congress and Forum on Fats and Oils [张来林, 古争艳, 周杰生, 等. 2种储藏方式对3种原粮储藏品质的影响研究[C]. 中国粮油学会 (CCOA), 国际谷物科技协会 (ICC). Book of Abstracts of 14th ICC Cereal and Bread Congress and Forum on Fats and Oils. 河南工业大学粮食食品学院; 中央储备粮潢川直属库; 2012: 2]

Zhao CF, Hu W. Research progress on the function of reactive oxygen species in insects [J/OL]. *Journal of Environmental Entomology*, 1-22 [赵崇飞, 胡威. 活性氧在昆虫体内的功能研究进展 [J/OL]. 环境昆虫学报, 1-2]

Zhou SX, Cao Y, Li GT, *et al.* Lactic acid contents of *Tribolium castaneum* insect stages in 5% and 2% low oxygen atmosphere [J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2009, 24(09): 97-100 [周思旭, 曹阳, 李光涛等. 2%和5%低氧处理赤拟谷盗不同虫态的乳酸测定研究 [J]. 中国粮油学报, 2009, 24(09): 97-100]