

联苯肼酯亚致死质量浓度对二斑叶螨 *Tetranychus urticae* 解毒酶系的影响

常 芸 王常清 尚素琴*

(甘肃农业大学植物保护学院, 甘肃省农作物病虫害生物防治工程实验室, 兰州 730070)

摘要: 为明确联苯肼酯对二斑叶螨 *Tetranychus urticae* 体内解毒酶系的影响, 采用叶片浸渍法测定联苯肼酯对二斑叶螨的亚致死质量浓度 LC_{10} 和 LC_{30} , 用这 2 种浓度分别处理二斑叶螨, 并测定 60 h 内二斑叶螨体内谷胱甘肽 S-转移酶 (glutathione S-transferase, GST)、羧酸酯酶 (carboxylesterase, CarE) 和多功能氧化酶 (multifunctional oxidase, MFO) 的比活力, 以及米氏常数 K_m 及最大反应速率 v_{max} 的变化。结果显示, 经 LC_{10} 和 LC_{30} 剂量处理二斑叶螨后, 其体内 CarE、GST 和 MFO 的活性在 6~60 h 均受到明显诱导。其中, GST 和 MFO 的比活力在 12 h 最大, 分别为对照的 1.25 倍、1.60 倍和 1.63 倍、1.84 倍, CarE 的比活力在 48 h 最大, 为对照的 1.27 倍和 1.37 倍; 与对照组相比, CarE 的 K_m 显著减小, v_{max} 显著升高, 而 GST 和 MFO 的 K_m 显著增大, v_{max} 显著减小。表明 3 种酶均参与了二斑叶螨对联苯肼酯的解毒代谢, 其中 CarE 与底物的亲和力最大, 反应速率最快, 其对联苯肼酯的解毒代谢起主导作用。

关键词: 二斑叶螨; 联苯肼酯; 解毒酶; 比活力; 酶动力常数

Effects of sublethal concentration of bifenazate on the activities of detoxification enzymes against red spider mite *Tetranychus urticae*

CHANG Yun WANG Changqing SHANG Suqin*

(Biological Engineering Laboratory of Crop Diseases and Pests of Gansu Province, College of Plant Protection, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, Gansu Province, China)

Abstract: In order to clarify the effects of sublethal concentration (LC_{10} , LC_{30}) of bifenazate on the activities of detoxification enzymes against red spider mite *Tetranychus urticae*, the sublethal concentrations LC_{10} and LC_{30} of bifenazate were calculated according to the virulence regression equation. The changes in the specific activities of carboxylesterase (CarE), glutathione S-transferase (GST), multifunctional oxidase (MFO) and their Michaelis constant (K_m) and maximal velocity (v_{max}) values during 60 hours were tested and analyzed after treated with bifenazate (LC_{10} and LC_{30}). The results showed that the specific activities of CarE, GST and MFO were significantly induced at 6~60 h after LC_{10} and LC_{30} treatments and the specific activities of GST and MFO reached the maximum value at 12 h, which were 1.25, 1.60 times and 1.63, 1.84 times of the control, respectively. The specific activity of CarE reached to the maximum value at 48 h, which was 1.27 and 1.37 times of the control. Compared with the control group, the K_m value of CarE significantly reduced, and its v_{max} value increased significantly, while the K_m values of both GST and MFO increased significantly, and the v_{max} values of both GST and MFO significantly decreased. The results indicated that all three enzymes were involved in the

基金项目: 甘肃农业大学青年导师基金(GAU-QNDS-201606)

* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: shangsq@gsau.edu.cn

收稿日期: 2019-10-25

detoxification against bifenazate in *T. urticae*, but CarE had the highest affinity with the substrate and the fastest reaction rate, and played a leading role in the metabolic process of bifenazate.

Key words: *Tetranychus urticae*; bifenazate; detoxifying enzyme; specific activity; kinetic parameter of enzymology

二斑叶螨 *Tetranychus urticae* 隶属蛛形纲蜱螨亚纲叶螨科叶螨属,是一种世界性的害螨(匡海源,1986),其寄主植物超过140科1 100余种(徐丹丹等,2019),其多集中在寄主叶背刺吸为害,使叶片很快失绿直至枯萎脱落,当虫口密度过高时则垂丝拉网(马淑娥等,1998),因其具有繁殖快、适应性极强、抗性问题严重等特点,是公认的最难防治的有害生物之一(陈国杰,2005)。自1990年在甘肃省天水市、兰州市苹果园零星发生后,目前已从次要害螨变为主要害螨,成为农作物、蔬菜、花卉和果树等的重要害螨之一,尤其对草莓生产造成严重为害(孟和生等,2001;刘庆娟等,2011;曹利军等,2018)。随着甘肃省草莓种植面积不断扩大,栽培形式由露地逐渐发展为保护地栽培(汤玲等,2017),草莓病、虫、螨害发生逐年增长,单一的化学防治引发质量安全和环境污染问题,成为制约甘肃乃至我国果业生产的主要因素之一。

化学防治仍是治理二斑叶螨的主要对策,但杀螨剂施于田间后,除了直接杀死靶标害螨外,其毒力会随着时间的延续而逐渐递减至亚致死剂量或者浓度,受药害螨个体接触到的药剂量不足以使其死亡,造成害螨生理和行为上的改变,极易导致螨类等害虫抗性的发展(李会仙,2006;Desneux et al., 2007;王玲等,2016),因此,昆虫的生理生化抗性在其对杀虫剂抗药性的产生和发展过程中起着重要作用。害螨对外源性物质(药物、杀虫剂、和致癌物等)的适应根据其抗药性机制分为降低暴露,增强代谢、储存和排出,降低靶标敏感性等方面(Van Leeuwen & Dermauw, 2016),其中代谢主要依赖于解毒酶系,包括谷胱甘肽S-转移酶(glutathione S-transferase, GST)、羧酸酯酶(carboxylesterase, CarE)以及多功能氧化酶(multifunctional oxidase, MFO),其中CarE通过与杀虫剂结合使杀虫剂在到达靶标位点之前被阻断或降解;GST能与杀螨剂中具有毒理作用的亲电基团结合并排出体外;MFO是一类重要的氧化代谢酶,脱甲基作用是其代谢杀虫剂的重要途径之一(王光峰等,2003;Enayati et al., 2005;余慧灵等,2015)。害螨体内的解毒酶活性能被各种外源化合物诱导,使其对杀螨剂等有毒物质产生适应性,即害螨在受到非常严重的化学环境压力下能迅速作出反应,通

过解毒酶活性的提高、解毒代谢作用的增强维持其自身正常生命活动而存活下来(尹显慧等,2008)。近年来,测定害螨体内解毒酶活性等生化分析方法已成为研究亚致死效应的重要内容(Desneux et al., 2007)。陆澄滢(2010)报道这3大解毒酶直接影响着昆虫的解毒代谢能力,参与了昆虫抗药性的形成过程;贾变桃等(2016)为阐明虱螨脲对小菜蛾 *Plutella xylostella* 亚致死效应的生化机制,测定了该药剂LC₁₀和LC₂₅亚致死浓度处理小菜蛾3龄幼虫1~72 h体内解毒酶系的活力变化;何发林等(2019)通过酶动力学法检测了溴氰虫酰胺亚致死剂量对小地老虎 *Agrotis ipsilon* 解毒酶活力的影响;尚素琴和薛玉丽(2019)测定了联苯肼酯亚致死质量浓度对截形叶螨 *Tetranychus urticae* 解毒酶系比活力和酶动力学常数的影响。

联苯肼酯是一种新型氨基甲酸酯类专性杀螨剂,对螨类各生长阶段均有效,且毒性低、持效期长,对植物没有毒害,对捕食螨、寄生蜂、草蛉低风险,与现有杀螨剂无交互抗性,适于害螨的综合防治(王元元等,2011;宫亚军等,2013)。作为草莓上唯一获得登记使用的药品,关于其对二斑叶螨敏感品系亚致死效应方面的研究尚属空白。本试验通过测定联苯肼酯亚致死质量浓度LC₁₀和LC₃₀处理二斑叶螨后其体内3大解毒酶的比活力、米氏常数(Michaelis constants, K_m)及最大反应速率(maximal velocities, v_{max})随时间变化的情况,探究联苯肼酯亚致死质量浓度对二斑叶螨体内解毒酶比活力及酶动力学常数的影响,确定二斑叶螨代谢联苯肼酯时解毒酶的变化情况,以期为联苯肼酯的合理使用及二斑叶螨的防治和抗药性治理提供理论依据和指导。

1 材料与方法

1.1 材料

供试虫源和植物:二斑叶螨采自甘肃省兰州新区草莓农业示范园,室内长期饲养,期间未接触任何药剂。饲养条件为温度(25±1)℃,相对湿度(60±5)%,光周期L:D=16 h:8 h。培养多代后的雌成螨备用。在直径为20 cm花盆中种植由温水浸泡2 h的菜豆种子,等菜豆出苗后生长约1周接螨备用。菜豆种子

品种为芸丰,购自禾之元种业有限公司。

药剂、试剂及仪器: $\geq 99\%$ 联苯肼酯(bifenazate)原药,成都德思特生物科技有限公司;牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)、考马斯亮蓝G-250、 $\geq 99\%$ α -萘酚(1-naphthol)、 α -乙酸萘酯、还原性谷胱甘肽(reduced glutathione, GSH)、 $>98\%$ 还原型辅酶II(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH),北京索莱宝科技有限公司;固蓝B盐,上海源叶生物科技有限公司;毒扁豆碱,甘肃金博研生物科技有限公司; $\geq 99\%$ 1-氯-2,4-二硝基苯(1-chloro-2,4-dinitrobenzene, CDNB)、十二烷基磺酸钠(sodium lauryl-sulfonate, SDS),上海中秦化学试剂有限公司; $\geq 99.5\%$ 乙二胺四乙酸(ethylene diaminetetra acetic acid, EDTA),天津市光复科技发展有限公司; $\geq 99.5\%$ 对硝基苯酚(P-nitrophenol)、丙酮溶液,天津市凯信化学工业有限公司。H1850R型高速冰冻离心机,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;ELX800UV酶标仪,美国Bio Tek公司;AR224CN电子天平,上海奥豪斯仪器有限公司;UPD-I-20T超纯水器,四川优普超纯科技有限公司;S·HH·W21·420S型电热恒温水浴锅,上海跃进医疗器械有限公司;SPX-250-GB智能型光照培养箱,上海跃进医疗器械有限公司。

1.2 方法

1.2.1 二斑叶螨室内毒力测定

采用叶片浸渍法(孟和生,2002)测定联苯肼酯对二斑叶螨雌成螨的毒力。选取直径为7.0 cm的培养皿,内置浸水海绵,依次放入滤纸、新鲜菜豆叶(背面朝上),用浸水棉条围住叶缘和叶柄,之后挑取30头大小一致、健康活泼的二斑叶螨雌成螨,待螨体稳定后,剔除死亡和不活泼个体,记录实际螨数作为供试基数。

用丙酮溶液稀释将联苯肼酯稀释为5个不同浓度梯度,分别为16、8、4、2和1 mg/L,各浓度分别量取80 mL药液到不同培养皿里,使带有雌成螨的叶片浸入各浓度药液中,轻晃5 s后取出放入培养皿中,并迅速用吸水纸吸干螨体及其周围多余的药液,重新用棉条围住叶缘和叶柄,置于温度(25 ± 1)℃、相对湿度($60\pm 5\%$)%、光周期L:D=16 h:8 h培养箱中饲养,48 h后记录死亡的螨数,用毛笔轻触螨体,螨足不动者视为死亡。每个浓度重复3次,以同体积的丙酮溶液作对照。根据校正死亡率拟合出毒力回归方程,得到亚致死质量浓度LC₁₀和LC₃₀,校正死亡率=(处理组死亡率-对照组死亡率)/(1-对照组

死亡率)×100%。

1.2.2 亚致死质量浓度处理

在温度(25 ± 1)℃、相对湿度($60\pm 5\%$)%、光周期L:D=16 h:8 h光照培养箱中用盆栽菜豆苗进行二斑叶螨扩繁,待螨源充足,分别配制联苯肼酯LC₁₀和LC₃₀浓度药液1.5 L,对照为相同配比的丙酮溶液,将覆满二斑叶螨的菜豆苗于药液5 s后取出,每处理6盆,将各处理菜豆苗分别置于温度(25 ± 1)℃、相对湿度($60\pm 5\%$)%、光周期L:D=16 h:8 h光照培养箱,于6、12、24、36、48和60 h后分别挑取150头雌成螨至1.5 mL离心管,用液氮冷冻后置于-20℃冰箱备用。每个浓度每个处理时间3次重复。

1.2.3 解毒酶活性测定

酶源制备及蛋白含量测定:为避免pH变化对酶造成的影响,不同酶选用不同缓冲能力的PBS缓冲液,以使酶调制到最适pH。将1.2.2中试虫分别用预冷的pH 7.0、0.066 mol/L的PBS缓冲液1.5 mL,pH 7.0、0.04 mol/L的PBS缓冲液1.5 mL及pH 7.8、0.1 mol/L的PBS缓冲液1.5 mL匀浆,4℃、12 000 g离心15 min,取各自上清液分别获得GST、CarE、MFO酶液,4℃保存备用。采用Bradford(1976)考马斯亮蓝G-250法,称取0.0125 g考马斯亮蓝G-250,溶于6.25 mL 95%的乙醇中,加入85%的磷酸12.5 mL,用蒸馏水定容至250 mL,在深棕色容量瓶中置于4℃冰箱保存。依次分别在酶标板待测孔中加入考马斯亮蓝G-250试剂200 μL、酶液50 μL,对照用pH 7.0、0.1 mol/L的PBS缓冲液替代酶液。37℃反应10 min,在595 nm下测定其OD值。将所测OD值与对照OD值之差代入牛血清蛋白标准曲线方程计算得出相对应的蛋白含量。参照何恒果(2010)方法制作牛血清蛋白标准曲线。

比活力测定:参照Clark et al.(2001)和何恒果(2010)方法测定GST比活力。在37℃条件下,底物CDNB与GSH经GST作用发生反应,在波长340 nm处以30 s为间隔用酶标仪测其5 min内的OD值,并参照Habig et al.(1974)方法计算GST比活力,比活力单位为 $\mu\text{mol}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$,GST比活力=酶活力单位/酶液蛋白含量。

参照何林等(2003)和何恒果(2010)方法测定CarE比活力。以 3×10^{-4} mol/L α -乙酸萘酯(含毒扁豆碱)为底物,与酶液在30℃下经酯酶作用反应10 min,然后加入显色剂(1% 固兰B水溶液:5% 十二烷基磺酸钠),在600 nm处用酶标仪测其OD值。根据 α -萘酚标准曲线和酶源蛋白质含量,将OD值

换算成比活力, 比活力单位为 $\mu\text{mol}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ 。参照何恒果(2010)的方法制作 α -萘酚标准曲线。

参照 Kim et al.(2006)方法测定 MFO 比活力。以对硝基苯甲醚为底物, 氧和 NADPH 提供电子, 在 37℃下反应 30 min, MFO 催化发生氧脱甲基作用生成对硝基苯酚, 随之加入 1 mol/L 盐酸 100 μL 终止反应, 并经过氯仿、0.5 mol/L NaOH 溶液 300 μL 萃取后, 在 400 nm 处用酶标仪测其 OD 值。根据对硝基苯酚标准曲线和酶源蛋白含量, 将 OD 值换算成比活力, 比活力单位为 $\mu\text{mol}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ 。参照何恒果(2010)的方法制作对硝基苯酚标准曲线。

1.2.4 酶动力学常数测定

参照 Wilkinson(1961)方法, 将 GST 底物 CDNB 稀释成 0.75、1.5、3、6、12 和 24 mmol/L, CarE 底物 α -乙酸萘酯(含毒扁豆碱)稀释成 0.075、0.15、0.3、0.6 和 1.2 mmol/L, MFO 底物对硝基苯甲醚稀释成 3.144、4.192、5.240、6.288、7.336 和 8.384 mmol/L, 按 1.2.3 酶活性的测定方法进行加样和测定, 根据 Line-weaver-Burk 双倒数作图法原理采用 Excel 软件线性回归分析计算米氏常数 K_m 和最大反应速率 v_{max} 。 K_m 值表示酶与底物的亲和力, K_m 值愈大, 酶与底物的亲和力愈小, K_m 值愈小, 酶与底物的亲和力愈大; v_{max} 值表示反应速度的快慢, v_{max} 值越大, 反应速率越快, v_{max} 值越小, 反应速率越慢。

1.3 数据分析

试验数据均用 Excel 2013 和 SPSS 22.0 进行统计分析, 应用 Duncan 氏新复极差法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 联苯肼酯对二斑叶螨的亚致死浓度

根据毒力测定结果建立毒力回归方程 $y=-0.713+0.991x$, 卡方值 $\chi^2=0.620$, 相关系数 $R^2=0.992$, 计算出联苯肼酯对二斑叶螨 48 h 的亚致死浓度 LC_{10} 为 0.259 mg/L, LC_{30} 为 1.533 mg/L。

2.2 二斑叶螨解毒酶的比活力

2.2.1 联苯肼酯对 GST 的比活力

联苯肼酯 LC_{10} 、 LC_{30} 处理二斑叶螨后, 其体内 GST 比活力的变化趋势与对照基本一致, 呈先升高后降低再升高的趋势, 且均在 12 h 达到最大值, 分别为 $28.48 \mu\text{mol}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ 和 $36.31 \mu\text{mol}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, 是对照的 1.25 倍和 1.60 倍。 LC_{30} 处理的比活力在 6~12 h 上升, 12~48 h 持续下降, 48~60 h 上升, 均显著高于 LC_{10} 处理和对照($P<0.05$); 而 LC_{10} 处理的比活力在 6~12 h 上升, 12~24 h 下降, 且在 24 h 低于对照, 处于抑制状态, 随后在 24~60 h 缓慢上升, 逐渐高于对照, 在 24、36 h 与对照无显著差异, 其余处理时间均显著高于对照($P<0.05$)(图 1)。

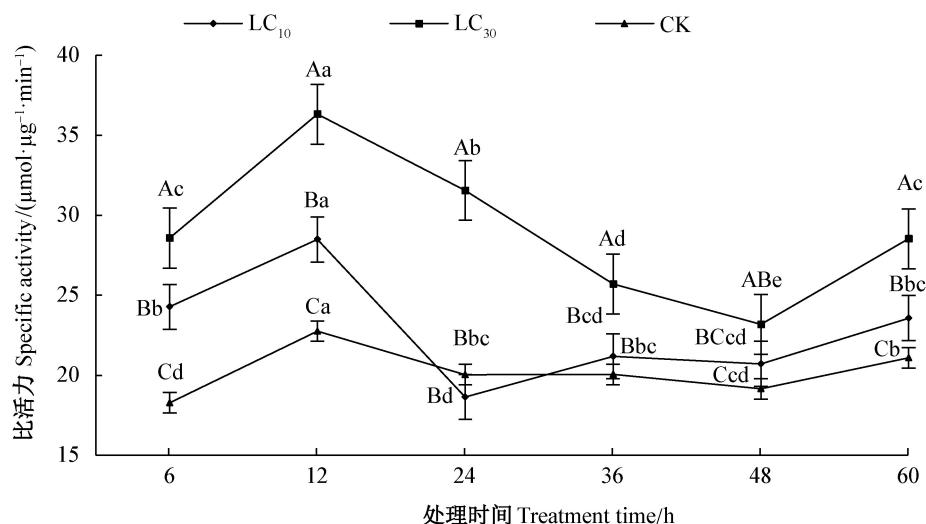


图 1 联苯肼酯亚致死质量浓度对二斑叶螨 GST 比活力的影响

Fig.1 Effects of sublethal concentrations of bifenazate on the specific activity of GST in *Tetranychus urticae*

图中数据为平均数±标准误。不同大小写字母表示同一时间不同处理或同一处理不同时间解毒酶比活力经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SE. Different uppercases or lowercase indicate significant difference in the detoxifying enzyme activities at the same time between different treatments or in the same treatment between different times at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

2.2.2 联苯肼酯对 CarE 的比活力

联苯肼酯 LC_{10} 、 LC_{30} 处理二斑叶螨后, 二者 CarE

比活力的变化趋势基本一致, 均呈现先升高后降低的趋势, 在处理 6~48 h 时, CarE 比活力持续上升, 在

处理48 h时达最大,分别为 $1.05 \mu\text{mol}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ 和 $1.14 \mu\text{mol}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$,是对照的1.27倍和1.37倍,随后在处理48~60 h时降低;除处理6 h时LC₁₀处理的

CarE比活力与对照无显著差异外,LC₁₀、LC₃₀均显著高于对照($P<0.05$),且LC₃₀显著高于LC₁₀($P<0.05$);对照组比活力峰值则出现在60 h(图2)。

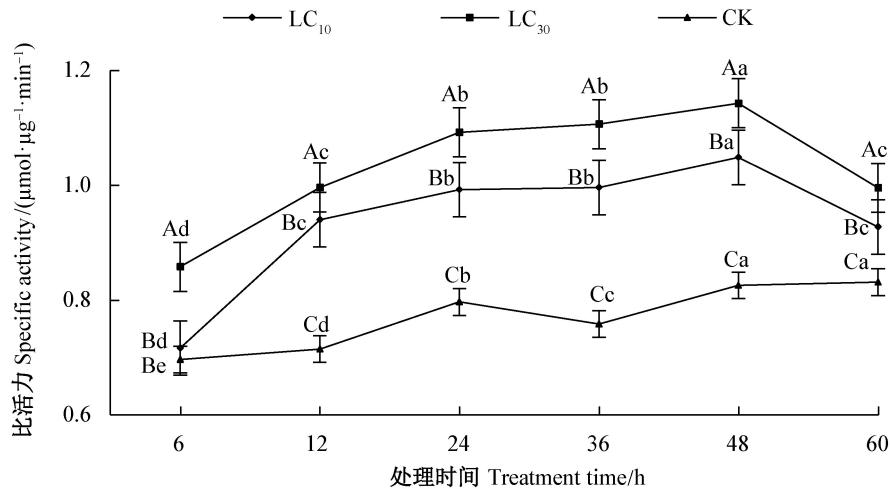


图2 联苯肼酯亚致死质量浓度对二斑叶螨CarE比活力的影响

Fig. 2 Effects of sublethal concentrations of bifenazate on the specific activity of CarE in *Tetranychus urticae*

图中数据为平均数±标准误。不同大小写字母表示同一时间不同处理或同一处理不同时间解毒酶比活力经Duncan氏新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SE. Different uppercases or lowercases indicate significant difference in the detoxifying enzyme activities at the same time between different treatments or in the same treatment between different times at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

2.2.3 联苯肼酯对MFO的比活力

联苯肼酯LC₁₀、LC₃₀处理二斑叶螨后,其体内MFO比活力在处理6~12 h时迅速上升,处理12 h时达到最大值,分别为 $0.031 \mu\text{mol}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ 和 $0.035 \mu\text{mol}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$,是对照的1.63倍和1.84倍,处理

12~36 h时LC₁₀先降低后升高,而LC₃₀处理持续降低,处理36~60 h时LC₁₀和LC₃₀处理均先升高后降低,与对照变化趋势基本一致,且LC₁₀和LC₃₀处理显著高于对照($P<0.05$);除处理36 h时LC₁₀和LC₃₀处理间无显著差异外,LC₃₀处理均显著高于LC₁₀处理($P<0.05$)(图3)。

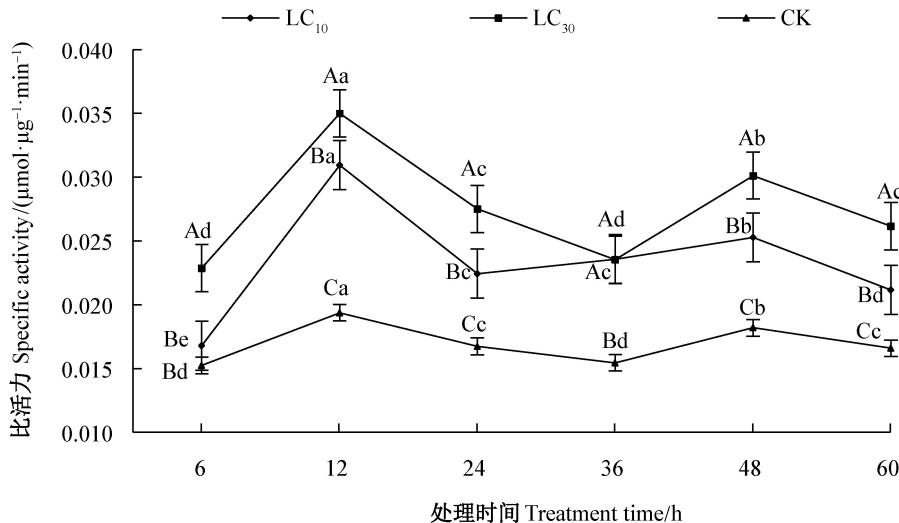


图3 联苯肼酯亚致死质量浓度对二斑叶螨MFO比活力的影响

Fig. 3 Effects of sublethal concentrations of bifenazate on the specific activity of MFO in *Tetranychus urticae*

图中数据为平均数±标准误。不同大小写字母表示同一时间不同处理或同一处理不同时间解毒酶比活力经Duncan氏新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SE. Different uppercases or lowercases indicate significant difference in the detoxifying enzyme activities at the same time between different treatments or in the same treatment between different times at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

2.3 酶动力学常数测定

2.3.1 GST 的动力学常数

联苯肼酯LC₁₀处理二斑叶螨后,在处理6、12、36、60 h时,其米氏常数K_m显著高于对照($P<0.05$),处理12 h时最高为6.085 mmol/L,处理24 h时最低为5.435 mmol/L,显著低于对照,而处理48 h与对照无显著差异;联苯肼酯LC₁₀处理二斑叶螨后, v_{max} 在处理6、

12、60 h时显著低于对照($P<0.05$),处理12 h时K_m最低为53.191 $\mu\text{mol}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$,处理24、36 h时显著高于对照,处理24 h时K_m最高为62.112 $\mu\text{mol}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$,48 h则与对照无显著性差异。LC₃₀处理二斑叶螨后,其K_m均显著高于对照和LC₁₀处理($P<0.05$),12 h最高为6.647 mmol/L,而 v_{max} 均显著低于对照和LC₁₀($P<0.05$),12 h最低为49.020 $\mu\text{mol}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ (表1)。

表1 联苯肼酯亚致死质量浓度对草莓二斑叶螨GST的动力学常数

Table 1 The kinetic parameters of GST in *Tetranychus urticae* treated with sublethal concentrations of bifenazate

时间 Time/h	米氏常数 Michaelis constant/K _m			最大反应速率 Maximal velocity/v _{max}		
	对照 CK	LC ₁₀	LC ₃₀	对照 CK	LC ₁₀	LC ₃₀
6	5.456±0.003 Cc	5.639±0.011 Bb	5.798±0.032 Ad	59.772±0.184 Ab	55.556±0.159 Be	54.645±0.070 Ca
12	5.575±0.002 Ca	6.085±0.010 Ba	6.647±0.019 Aa	57.471±0.060 Ae	53.191±0.101 Bf	49.020±0.382 Ce
24	5.482±0.002 Bb	5.435±0.007 Ce	6.183±0.006 Ab	58.824±0.018 Bc	62.112±0.175 Aa	52.356±0.137 Cd
36	5.460±0.004 Cc	5.512±0.010 Bd	6.021±0.012 Ac	59.018±0.097 Bc	59.524±0.212 Ac	53.476±0.091 Cc
48	5.396±0.007 Bd	5.436±0.009 Be	5.967±0.042 Ac	60.976±0.092 Aa	60.606±0.198 Ab	54.348±0.116 Bab
60	5.570±0.006 Ca	5.607±0.007 Bc	6.165±0.004 Ab	58.140±0.073 Ad	56.180±0.155 Bd	53.882±0.053 Cbc

表中数据为平均数±标准误。同行不同大写字母、同列不同小写字母表示经Duncan氏新复极差法检验在P<0.05水平差异显著。Data are mean±SE. Different upercases in the same line or lowercases in the same column indicate significant difference at P<0.05 level by Duncan's new multiple range test.

2.3.2 CarE 的动力学常数

联苯肼酯LC₁₀处理二斑叶螨后,除处理6 h时的K_m和 v_{max} 与对照无显著差异外,其余处理时间K_m均显著低于对照($P<0.05$),其中处理60 h时K_m最低为0.459 mmol/L, v_{max} 均显著高于对照($P<0.05$),处理60 h v_{max} 最高为2.632 $\mu\text{mol}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ 。LC₃₀处理二斑叶螨后,其K_m均显著低于对照($P<0.05$),处理6 h

时最低为0.436 mmol/L, v_{max} 均显著高于对照($P<0.05$),处理6 h时最高为2.754 $\mu\text{mol}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$;与LC₁₀处理相比,K_m在处理6、12、24、60 h时显著低于LC₁₀处理($P<0.05$),其它时间无显著差异,而 v_{max} 在处理6、36、60 h时间显著高于LC₁₀处理,12、24、48 h与LC₁₀处理均无显著差异(表2)。

表2 联苯肼酯亚致死质量浓度对草莓二斑叶螨CarE的动力学常数

Table 2 The kinetic parameters of CarE in *Tetranychus urticae* treated with sublethal concentrations of bifenazate

时间 Time/h	米氏常数 Michaelis constant/K _m			最大反应速率 Maximal velocity/v _{max}		
	对照 CK	LC ₁₀	LC ₃₀	对照 CK	LC ₁₀	LC ₃₀
6	0.452±0.003 Ae	0.449±0.002 Ae	0.436±0.002 Bd	2.665±0.003 Ba	2.666±0.002 Ba	2.754±0.003 Aa
12	0.474±0.002 Ad	0.462±0.002 Bcd	0.453±0.003 Cbc	2.596±0.008 Bb	2.625±0.007 Ab	2.632±0.005 Ac
24	0.505±0.003 Ab	0.468±0.001 Bbc	0.457±0.002 Cbc	2.545±0.003 Bd	2.612±0.001 Ac	2.619±0.009 Ac
36	0.489±0.002 Ac	0.471±0.003 Bb	0.461±0.003 Bb	2.576±0.002 Cc	2.603±0.002 Bc	2.623±0.005 Ac
48	0.514±0.002 Aa	0.480±0.003 Ba	0.472±0.004 Ba	2.531±0.004 Bd	2.589±0.002 Ad	2.597±0.003 Ad
60	0.511±0.002 Aab	0.459±0.002 Bd	0.450±0.002 Cc	2.536±0.008 Cd	2.632±0.003 Bb	2.659±0.005 Ab

表中数据为平均数±标准误。同行不同大写字母、同列不同小写字母表示经Duncan氏新复极差法检验在P<0.05水平差异显著。Data are mean±SE. Different upercases in the same line or lowercases in the same column indicate significant difference at P<0.05 level by Duncan's new multiple range test.

2.3.3 MFO 的动力学常数

联苯肼酯LC₁₀、LC₃₀处理二斑叶螨后,除处理6 h时 v_{max} 与对照无显著差异外,其余时间处理下均显

著低于对照($P<0.05$),处理12 h时最低,分别为0.043 $\mu\text{mol}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ 和0.042 $\mu\text{mol}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$,且除处理6、12 h时外,LC₃₀处理均显著低于LC₁₀处理。

在处理 12、36、48 h 时 LC_{10} 的 K_m 显著高于对照 ($P < 0.05$)，处理 12 h 时最高为 4.031 mmol/L，其余时间与对照无显著差异； LC_{30} 处理的 K_m 均显著高于对

照，处理 12 h 时最高为 4.112 mmol/L，且在处理 36、48、60 h 时显著高于 LC_{10} （表 3）。

表 3 联苯肼酯亚致死质量浓度对二斑叶螨 MFO 的动力学常数

Table 3 The kinetic parameters of MFO in *Tetranychus urticae* treated with sublethal concentrations of bifenazate

时间 Time/h	米氏常数 Michaelis constant/ K_m			最大反应速率 Maximal velocity/ v_{max}		
	对照 CK	LC_{10}	LC_{30}	对照 CK	LC_{10}	LC_{30}
6	3.031±0.010 Bc	3.100±0.077 ABd	3.218±0.010 Ad	0.063±0.000 Ac	0.064±0.000 Aa	0.062±0.001 Aa
12	3.253±0.004 Ba	4.031±0.055 Aa	4.112±0.097 Aa	0.062±0.000 Ad	0.043±0.000 Bd	0.042±0.001 Be
24	3.136±0.005 Bb	3.332±0.106 ABc	3.529±0.004 Ab	0.064±0.001 Ab	0.061±0.001 Bb	0.054±0.000 Cc
36	2.984±0.003 Cd	3.268±0.006 Bcd	3.365±0.006 Ac	0.065±0.001 Aa	0.062±0.001 Bb	0.059±0.002 Cb
48	3.244±0.002 Ca	3.761±0.052 Bb	4.024±0.023 Aa	0.062±0.000 Acd	0.048±0.001 Bc	0.045±0.001 Cd
60	3.128±0.006 Bb	3.150±0.013 Bcd	3.532±0.003 Ab	0.064±0.000 Ab	0.063±0.000 Bab	0.053±0.000 Cc

表中数据为平均数±标准误。同行不同大写字母、同列不同小写字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P < 0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SE. Different uppercases in the same line or lowercases in the same column indicate significant difference at $P < 0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

3 讨论

昆虫体内存在的解毒酶在杀虫剂代谢和抗(耐)药性等方面起着非常重要的作用。本试验中,联苯肼酯亚致死剂量处理二斑叶螨后,GST、CarE 和 MFO 比活力均有不同程度的升高,在不同时间的比活力均存在显著差异,说明二斑叶螨对进入其体内的联苯肼酯产生一定的应激反应,在某些时间段可显著提高解毒酶比活力,加快对有毒物质的解毒和排毒,降低二斑叶螨对联苯肼酯的敏感性,维持螨体自身正常的生理代谢,也可能是联苯肼酯对二斑叶螨的取食、睡眠等生理行为产生了影响,且随浓度的大小而改变,表明联苯肼酯对草莓上二斑叶螨体内的解毒酶均有诱导作用,3 种酶都参与了联苯肼酯的解毒代谢。

联苯肼酯 LC_{30} 处理后,其体内 GST(除 48 h)、CarE、MFO(除 36 h) 的比活力均显著高于 LC_{10} 处理,说明联苯肼酯质量浓度越高,其对二斑叶螨体内的解毒酶的诱导作用越明显,前人研究也有类似报道,如尚素琴等(2018)认为甲氰菊酯对苹果蠹蛾 *Cydia pomonella* 体内解毒酶的诱导作用随浓度的增大而加强;杨磊等(2019)研究结果表明,甲氧香螨酯对截形叶螨体内 GST 和 CarE 的诱导作用随浓度的增大而加强。不同解毒酶对不同浓度联苯肼酯的反应存在差异,可能是二斑叶螨在不同浓度的药剂胁迫下采取的一种生存对策(陈列忠等,2005)。但也有研究表明化学药剂对昆虫体内的解毒酶会产生抑制作用,如余慧灵等(2015)发现亚致死剂量的溴氰虫酰

胺对甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 幼虫体内解毒酶活性有不同程度的抑制作用。贾变桃等(2016)报道经虱螨脲亚致死浓度处理后,小菜蛾幼虫体内酯酶和多功能氧化酶活力被明显抑制,且浓度越高抑制作用越强,而 GST 比活力仅在处理后 1 h 被诱导,之后被显著抑制。这可能是作用方式和机理不同的杀虫剂对特定解毒酶的影响不同,另外与害虫个体抗药性强弱、杀虫剂摄入量等有直接关系,即使同类或同一杀虫剂对不同种类靶标害虫体内的解毒酶活力影响也会有差异。

酶动力学常数 K_m 值和 v_{max} 值常在昆虫抗药性机制中作为分析解毒酶质变和量变的依据,由此推测二斑叶螨经联苯肼酯诱导产生的 CarE 不仅分子数量增加,酶分子结构也发生了变化。这与何林等(2003)报道朱砂叶螨对阿维菌素产生抗性后,其体内 CarE 起主导作用;刘庆娟等(2012)发现二斑叶螨对哒螨灵抗性的增强可能与 CarE 有关的结论一致。孟和生和王开运(2000)报道柑橘全爪螨 *Panonychus citri* 体内 CarE 活性的增强是其哒螨酮抗性形成和发展的重要原因;而高萍等(2012)发现二斑叶螨阿维菌素抗性种群体内 GST 活性高于敏感种群;王小军等(2017)报道土耳其斯坦叶螨 *Tetranychus turkestanii* 对阿维菌素产生抗性的主要原因可能是 GST、MFO 活性的升高;刘连军等(2018)研究发现 MFO 比活力显著上升是朱砂叶螨对阿维菌素产生抗药性的重要原因,同时 CarE 和 GST 也参与了阿维菌素抗性品系的形成。不同的靶标害虫对不同药剂或同一药剂的代谢抗性机制不尽相同,可能与害虫

本身的生物学特性、药剂的作用机制及药剂胁迫时间的长短等密切相关。本研究仅探讨了联苯肼酯对二斑叶螨敏感种群的解毒酶活性及酶动力学常数随时间的变化情况,至于抗性种群及二斑叶螨对联苯肼酯的分子抗性机理还有待于进一步研究。

参 考 文 献 (References)

- BRADFORD MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein using the principle of protein-dye release. *Analytical Biochemistry*, 72(1/2): 248–254
- CAO LJ, ZHOU XY, GONG YJ, WEI SJ. 2018. Molecular identification and genetic diversity of spider mites on strawberry from 12 regions of China. *Plant Protection*, 44(4): 158–161 (in Chinese) [曹利军, 周晓怡, 宫亚军, 魏书军. 2018. 我国12个地区草莓叶螨种类分子鉴定及遗传多样性. 植物保护, 44(4): 158–161]
- CHEN GJ. 2005. Occurrence regularity and control methods of *Tetranychus urticae* in Pingliang City. *Gansu Agricultural Science and Technology*, (9): 48–49 (in Chinese) [陈国杰. 2005. 二斑叶螨在平凉市的发生规律及防治方法. 甘肃农业科技, (9): 48–49]
- CHEN LZ, WANG KJ, CHEN JM, LÜ ZX, ZHENG XS, XU HX, ZHANG YF, YU XP. 2005. Effect of *Tripterygium wilfordii* alkaloids on diamond back moth (*Plutella xylostella*) larval growth and 2 detoxification enzyme activities. *Entomological Journal of East China*, 14(3): 238–242 (in Chinese) [陈列忠, 王开金, 陈建明, 吕仲贤, 郑许松, 徐红星, 张珏峰, 俞晓平. 2005. 雷公藤生物碱对小菜蛾幼虫生长及其解毒酶系的影响. 华东昆虫学报, 14(3): 238–242]
- CLARK JM, LEE SH, KIM HJ, YOON KS, ZHANG A. 2001. DNA-based genotyping techniques for the detection of point mutations associated with insecticide resistance in Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata*. *Pest Management Science*, 57(10): 968–974
- DESNEUX N, DECOURTYE A, DELPUECH JM. 2007. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology*, 52: 81–106
- ENAYATI AA, RANSON H, HEMINGWAY J. 2005. Insect glutathione transferases and insecticide resistance. *Insect Molecular Biology*, 14(1): 3–8
- GAO P, ZHOU YS, MENG XM, LI ZZ, PIAO JZ. 2012. Changes of detoxification enzymes activity and analysis of their isoenzymes. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 43(5): 599–602 (in Chinese) [高萍, 周玉书, 孟祥梅, 李忠洲, 朴静子. 2012. 抗阿维菌素的二斑叶螨解毒酶活力变化及其酯酶同工酶分析. 沈阳农业大学学报, 43(5): 599–602]
- GONG YJ, SHI BC, WANG ZH, KANG ZJ, JIN GH, CUI WX, WEI SJ. 2013. Toxicity and field control efficacy of new acaricide bifenzure to the two-spotted mite *Tetranychus urticae* Koch. *Agrochemicals*, 52(3): 225–227, 233 (in Chinese) [宫亚军, 石宝才, 王泽华, 康总江, 金桂华, 崔文夏, 魏书军. 2013. 新型杀螨剂联苯肼酯对二斑叶螨的毒力测定及田间防效. 农药, 52(3): 225–227, 233]
- HABIG WH, PABST MJ, JAKOBY WB. 1974. Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *The Journal of Biological Chemistry*, 249(22): 7130–7139
- HE FL, JIANG XY, SANG DL, YAO CT, TAN HL, LI XD, ZHANG JW. 2019. Induction of the protective and detoxification enzymes by cyantraniliprole in *Agrotis ipsilon*. *Plant Protection*, 45(2): 90–96, 102 (in Chinese) [何发林, 姜兴印, 尚佃龙, 姚晨涛, 谭海丽, 李向东, 张吉旺. 2019. 溴氰虫酰胺胁迫对小地老虎保护酶和解毒酶活性的诱导效应. 植物保护, 45(2): 90–96, 102]
- HE HG. 2010. Fenpropidin and avermectin resistance, and esterase gene cloning and expression in *Panonychus citri* (McGregor). Ph.D Thesis. Chongqing: Southwest University (in Chinese) [何恒果. 2010. 桔全爪螨对甲氨基阿维菌素的抗性及其酯酶基因的克隆与表达研究. 博士学位论文. 重庆: 西南大学]
- HE L, TAN SL, CAO XF, ZHAO ZM, DENG XP, WANG JJ. 2003. Study on resistance selection and activity of detoxification enzyme in *Tetranychus cinnabarinus* (Bodival). *Chinese Journal of Pesticide Science*, 5(4): 23–29 (in Chinese) [何林, 谭仕禄, 曹小芳, 赵志模, 邓新平, 王进军. 2003. 朱砂叶螨的抗药性选育及其解毒酶活性研究. 农药学学报, 5(4): 23–29]
- JIA BT, JIAO P, YAMG 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 (in Chinese) [贾变桃, 焦鹏, 杨素梅. 2016. 蚜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 M, SIM C, SHIN D, SUH E, CHO K. 2006. Residual and sublethal effects of fenpyroximate and pyridaben on the instantaneous rate of increase of *Tetranychus urticae*. *Crop Protection*, 25(6): 542–548
- KUANG HY. 1986. Agricultural acarology. Beijing: Agricultural Press, pp. 1–290 (in Chinese) [匡海源. 1986. 农螨学. 北京: 中国农业出版社, pp. 1–290]
- LI HX. 2006. Sublethal effects of several pyrethroids on *Helicoverpa armigera*. Master Thesis. Taigu: Shanxi Agricultural University. (in Chinese) [李会仙. 2006. 几种拟除虫菊酯对棉铃虫亚致死效应研究. 硕士学位论文. 太谷: 山西农业大学]
- LIU LJ, LI P, LI HR, YANG HX, NONG QL, LIANG ZH, MA XH. 2018. Breeding of cassava *Tetranychus cinnabarinus* with abamectin resistance and change of detoxification enzymes activity. *Jiangsu Agricultural Science*, 46(23): 94–97 (in Chinese) [刘连军, 黎萍, 李恒锐, 杨海霞, 农秋连, 梁振华, 马仙花. 2018. 木薯朱砂叶螨抗阿维菌素品系选育及其解毒酶活性变化. 江苏农业科学, 46(23): 94–97]
- LIU QJ, LIU YJ, YU Y, ZHOU XH, MA H. 2012. The study on resistance and its mechanism of *Tetranychus urticae* to several common insecticides. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 49(2): 376–381 (in Chinese) [刘庆娟, 刘永杰, 于毅, 周仙红, 马惠. 2012. 二斑叶螨对七种杀螨剂的抗药性测定及其机理研究. 应用昆虫学报, 49(2): 376–381]
- LIU QJ, YU Y, LIU YJ, MA H, ZHANG AS, ZHANG SC, LI LL, MEN XY. 2011. Progress in the occurrence and control of *Tetra-*

- chus urticae*. Shandong Agricultural Sciences, (9): 99–101 (in Chinese) [刘庆娟, 于毅, 刘永杰, 马惠, 张安盛, 张思聪, 李丽莉, 门兴元. 2011. 二斑叶螨的发生与防治研究进展. 山东农业科学, (9): 99–101]
- LU CY. 2010. The molecular mechanisms of insect resistance progress. Hunan Agricultural Machinery, 37(5): 253–254 (in Chinese) [陆澄藻. 2010. 昆虫抗药性分子机制的研究进展. 湖南农机, 37(5): 253–254]
- MA SE, WANG JH, XU CR. 1998. Occurrence regularity and control technology of *Tetranychusurticae*. China Fruits, (2): 34–36 (in Chinese) [马淑娥, 王家红, 徐春荣. 1998. 二斑叶螨发生规律及防治技术. 中国果树, (2): 34–36]
- MENG HS. 2002. Comparison of the effects of two biological methods on the determination results of acaricide toxicity. Plant Protection, 28(3): 49–51 (in Chinese) [孟和生. 2002. 两种生测方法对杀螨剂毒力测定结果的影响比较. 植物保护, 28(3): 49–51]
- MENG HS, WANG KY. 2000. Selection and biochemical mechanism of the resistance to pyridaben in *Panonychus citri*. Chinese Journal of Pesticide Science, 2(3): 30–34 (in Chinese) [孟和生, 王开运. 2000. 桔全爪螨对哒螨灵抗性的选育及其生化机理. 农药学报, 2(3): 30–34]
- MENG HS, WANG KY, JIANG XY, YI MQ. 2001. Occurrence characteristics of *Tetranychus urticae* and its control methods. Entomological Knowledge, 38(1): 52–54 (in Chinese) [孟和生, 王开运, 姜兴印, 仪美芹. 2001. 二斑叶螨发生危害特点及防治对策. 昆虫知识, 38(1): 52–54]
- SHANG SQ, LIU YH, LIU N, ZHANG CH, TA GC. 2018. Effect of sublethal doses of fenpropathrin on the activities of detoxification enzymes in *Cydia pomonella*. Journal of Fruit Tree, 35(3): 326–333 (in Chinese) [尚素琴, 柳永花, 刘宁, 张彩虹, 他光崇. 2018. 甲氰菊酯亚致死剂量对苹果蠹蛾 *Cydia pomonella* 解毒酶系的影响. 果树学报, 35(3): 326–333]
- SHANG SQ, XUE YL. 2019. Effect of sublethal concentrations of bifenzazole on detoxifying enzymes in *Tetranychus truncates*. Chinese Journal of Applied Entomology, 56(4): 728–735 (in Chinese) [尚素琴, 薛玉丽. 2019. 亚致死质量浓度联苯肼酯对截形叶螨解酶系的影响. 应用昆虫学报, 56(4): 728–735]
- TANG L, HE H, KONG F, YANG FX, WANG WC. 2017. Development status and suggestions of strawberry industry in Gansu Province. Gansu Agricultural Science and Technology, (12): 86–89 (in Chinese) [汤玲, 贺欢, 孔芬, 杨馥霞, 王卫成. 2017. 甘肃省草莓产业发展现状及建议. 甘肃农业科技, (12): 86–89]
- VAN LEEUWEN T, DERMAUW W. 2016. The molecular evolution of xenobiotic metabolism and resistance in chelicerate mites. Annual Review of Entomology, 61(1): 475–498
- WANG GF, ZHANG YJ, BO LY, WU QJ, XU BY, ZHU GR. 2003. Effect of spinosad on the polyphenol oxidase and carboxyl esterase in beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner). Chinese Journal of Pesticide Science, 5(2): 40–46 (in Chinese) [王光峰, 张友军,
- 柏连阳, 吴青君, 徐宝云, 朱国仁. 2003. 多杀菌素对甜菜夜蛾多酚氧化酶和羧酸酯酶的影响. 农药学学报, 5(2): 40–46]
- WANG L, ZHANG YJ, WU QJ, XIE W, LIU YC, WANG SL. 2016. Control effects of garlic intercropping on spider mite *Tetranychus truncatus* on eggplants. Journal of Plant Protection, 43(6): 995–1000 (in Chinese) [王玲, 张友军, 吴青君, 谢文, 刘贻聪, 王少丽. 2016. 间作大蒜对茄子截形叶螨的防控效果. 植物保护学报, 43(6): 995–1000]
- WANG XJ, BAO JH, ZHANG YN, ZHU RW, ZHAO YY. 2017. Selection for insecticide resistance of *Tetranychus turkestanii* strains and change in the activity of detoxification enzymes. Plant Protection, 43(4): 70–75 (in Chinese) [王小军, 包建红, 张燕娜, 祝儒伟, 赵伊英. 2017. 土耳其斯坦叶螨对杀螨剂的抗性选育及解毒酶活力变化. 植物保护, 43(4): 70–75]
- WANG YY, GAO N, LI HH, FENG GF, XIAO YP. 2011. Studies on synthesis of miticide bifenazate. Fine Chemical Intermediates, 41(6): 8–10, 13 (in Chinese) [王元元, 高宁, 李辉辉, 冯根锋, 肖亚平. 2011. 杀螨剂联苯肼酯的合成研究. 精细化工中间体, 41(6): 8–10, 13]
- WILKINSON GN. 1961. Statistical estimations in enzyme kinetics. The Biochemical Journal, 80(2): 324–332
- XU DD, LI WJ, ZHANG YJ, WANG HS, WANG SL. 2019. Feeding and oviposition preferences of *Tetranychus urticae* on different melon varieties. Journal of Environmental Entomology, 41(5): 1070–1075 (in Chinese) [徐丹丹, 李文静, 张友军, 王怀松, 王少丽. 2019. 二斑叶螨对不同甜瓜品种的取食和产卵选择性. 环境昆虫学报, 41(5): 1070–1075]
- YANG L, GAO JT, BAI YL, SHANG SQ, CHEN B. 2019. Effect of sublethal concentration of scopoletin on activities of detoxification enzymes in *Tetranychus truncates*. Journal of Gansu Agricultural University, 54(1): 117–122 (in Chinese) [杨磊, 高娟桃, 白映禄, 尚素琴, 陈斌. 2019. 甲氧香螨酯亚致死浓度对截形叶螨 *Tetranychus truncates* 解毒酶活性变化的影响. 甘肃农业大学学报, 54(1): 117–122]
- YIN XH, WU QJ, LI XF, ZHANG YJ, XU BY. 2008. Effect of sublethal concentrations of spinosad on the activities of detoxifying enzymes in the larvae of diamondback moth *Plutella xylostella*. Chinese Journal of Pesticide Science, 10(1): 28–34 (in Chinese) [尹显慧, 吴青君, 李学锋, 张友军, 徐宝云. 2008. 多杀菌素亚致死浓度对小菜蛾解毒酶系活力的影响. 农药学学报, 10(1): 28–34]
- YU HL, XIANG X, YUAN GX, CHEN YQ, WANG XG. 2015. Effects of sublethal doses of cyantraniliprole on the growth and development and the activities of detoxifying enzymes in *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). Acta Entomologica Sinica, 58(6): 634–641 (in Chinese) [余慧灵, 向兴, 袁贵鑫, 陈羿渠, 王学贵. 2015. 溴氰虫酰胺亚致死剂量对甜菜夜蛾生长发育及体内解毒酶活性的影响. 昆虫学报, 58(6): 634–641]

(责任编辑:王璇)