

苦参碱对二斑叶螨解毒酶活力的影响

金晶,杨顺义,尚素琴,叶调琴

(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,甘肃 兰州 730070)

摘要:探讨了亚致死剂量苦参碱对二斑叶螨体内解毒酶比活力的影响,以解释二斑叶螨(*Tetranychus urticae*)对苦参碱的抗性,为苦参碱的科学使用提供理论依据。采用玻片浸渍法,分别用苦参碱的亚致死剂量 LC_{10} (0.021 mg/L) 和 LC_{30} (0.385 mg/L) 处理二斑叶螨雌成螨,处理 3、6、12、24、48 h 后测定分析其体内谷胱甘肽 S-转移酶(GSTs)、羧酸酯酶(CarE)以及多功能氧化酶(MFO)的酶比活力。结果发现: LC_{10} 和 LC_{30} 处理后,与对照相比,随着时间的推移,二斑叶螨雌成螨体内 CarE、GSTs 和 MFO 的比活力均有不同程度升高。 LC_{30} 处理组 CarE、MFO (除 3 h 外) 比活力均高于 LC_{10} 处理组,在 12~24 h 比活力最大;GSTs 比活力在 3、6 和 12 h 的 3 个时间点 LC_{10} 处理组高于 LC_{30} 处理组,且差异显著 ($P < 0.05$),在 24 h 后达最大。随着苦参碱浓度的增加,CarE、MFO 比活力增大,而 GSTs 比活力无明显变化。

关键词:二斑叶螨;苦参碱;亚致死剂量;解毒酶

中图分类号:S481.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-5500(2020)06-0089-06

DOI: 10.13817/j.cnki.cyycp.2020.06.014

二斑叶螨(*Tetranychus urticae*)属蜱螨目(Acarina),叶螨科叶螨属(*Tetranychus*),是一种世界性害螨。二斑叶螨生活周期短、繁殖系数高且适应能力强,除危害经济作物、花卉等以外,还危害城市观赏植物及牧草等,所有危害植物超过 1 100 多种。二斑叶螨也是甘肃省农作物、果蔬、城市绿地及观赏植物的第一大害螨^[1-3]。

目前,对二斑叶螨的防治措施主要有物理防治、化学药剂防治和生物防治等,但生产上化学药剂防治在二斑叶螨综合治理中仍占主要地位^[4]。但是由于农药的大量不合理使用,使得该物种对多种杀虫、杀螨剂的抗药性迅速增强,并对部分药剂产生了高抗性,使害螨的防治越来越难^[2]。因此,有害生物的抗性治理是目

前亟待解决的首要问题,选择生物源的生态合理及环境和谐性农药是二斑叶螨及农业有害生物防治的必然趋势。

螨类和昆虫等有害生物抗药性与其体内 3 大解毒酶 GSTs(谷胱甘肽 S-转移酶)、CarE(羧酸酯酶)和 MFO(多功能氧化酶)密切相关^[5-7]。高萍等^[8]研究发现,二斑叶螨经过长期的阿维菌素汰选,酯酶比活力增强。沈一凡等^[9]的研究表明,二斑叶螨对阿维菌素抗性增高与 MFO 比活力快速升高有关,GSTs 也参与阿维菌素抗性的形成。李瑞娟等^[10]研究发现,羧酸酯酶和多功能氧化酶解毒作用的增强可能是二斑叶螨对梅岭霉素产生抗性的主要原因,二斑叶螨对溴虫晴产生的抗性可能与谷胱甘肽 S-转移酶及脂酶代谢作用的增强有关。高新菊等报道,二斑叶螨对甲氰菊酯产生抗性的主要原因可能是多功能氧化酶比活力的上升,且发现二斑叶螨对四螨嗪的抗性主要受多功能氧化酶介导,CarE 和 GSTs 等也参与了四螨嗪抗性的形成^[11-12]。因此,要评价二斑叶螨对农药的抗性风险,必须明确其对二斑叶螨相关解毒酶的影响。

苦参碱是一种易分解、无污染、无残留且对人畜无危害的植物源农药,用途极广,对多种有害生物具有毒

收稿日期:2020-01-20; 修回日期:2020-04-13

基金项目:甘肃农业大学学科建设专项基金(GAU-XKJS-2018-153)

作者简介:金晶(1994-),女,甘肃康县人,硕士研究生。

E-mail:1098496090@qq.com

杨顺义为通讯作者。

E-mail:yangshy@gsau.edu.cn

杀、麻醉、拒食、抑制发育或干扰其行为等作用^[13]。将杀螨、杀虫剂用于田间防治后,除对主要害虫有直接毒杀作用外,施药后随着时间的推移,部分害螨(虫)会受到亚致死效应^[14-15]。苦参碱对二斑叶螨等害螨已有应用研究报道,但关于苦参碱对二斑叶螨解毒酶比活力的影响则鲜有报道^[16]。本试验用苦参碱亚致死剂量 LC₁₀ 和 LC₃₀ 处理二斑叶螨的雌成螨,测定其体内解毒酶系比活力随时间的变化情况,以期探究亚致死剂量苦参碱在不同时间对二斑叶螨体内解毒酶比活力的影响,为苦参碱防治二斑叶螨的使用剂量提

供依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 供试虫源 供试二斑叶螨敏感(SS)种群在甘肃农业大学植物保护学院养虫室内用菜豆苗饲养,饲养条件:温度(25±1)℃,湿度(75±5)%,L:D=16 h:8 h。饲养期间不接触任何杀虫杀螨剂。

1.1.2 供试药剂及试剂 5%苦参碱母药,北京三浦百草绿色植物制剂有限公司,供试试剂见表1。

表1 供试试剂

Table 1 Test agents

试剂名称	公司名称	试剂名称	公司名称
考马斯亮蓝 G-250	索莱宝生物科技有限公司	固蓝 B 盐	上海源叶生物科技有限公司
十二烷基磺酸钠	上海中秦化学试剂有限公司	牛血清白蛋白	中国医药集团上海化学试剂公司
α-乙酸萘酯	中国医药集团上海化学试剂公司	毒扁豆碱	甘肃金博研生物科技有限公司
1-氯-2,4-二硝基苯	上海中秦化学试剂有限公司	还原性谷胱甘肽	天津市光复科技发展有限公司
乙二胺四乙酸(EDTA)	天津市光复科技发展有限公司	对硝基苯酚	天津市凯信化学工业有限公司
还原型辅酶 II (NADPH)	索莱宝生物科技有限公司	对硝基苯甲醚	索莱宝生物科技有限公司
α-萘酚	索莱宝生物科技有限公司		

1.1.3 主要仪器 高速冷冻离心机 H1850R(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司)、数显式电热恒温三用箱 S·HH·W21·420S(上海跃进医疗器械有限公司)、酶标仪 ELX800UV(Bio-Tek Instruments)和优普系列超纯水器 ULUPURE(西安优普仪器设备有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 生物测定 室内毒力测定参照 FAO 推荐玻片浸渍法^[17]。首先用移液枪吸取 1 mL 5%苦参碱母药,用 5 mL 二甲基亚砷将其溶解,用蒸馏水定容至 1 000 mL,按照配比稀释 7 个浓度梯度,设不含药剂的二甲基亚砷水溶液作为对照。挑选大小基本一致的雌成螨,粘在载玻片一端的双面胶带上,每片胶带粘 5 行,每行大约粘 6~7 头。在温度为(25±1)℃、L:D=16 h:8 h、相对湿度(75±5)%的智能人工气候箱中放置 2 h 后观察,去除不太活泼及死亡的螨体。将药剂稀释成 7 个浓度梯度,分别将带螨玻片端浸入药液中,轻摆 5 s 取出,吸干螨体周围药液,将玻片放入铺有湿润纱布的托盘内,分别在 24、48 h 后用解剖镜检查结果,每处理重复 3 次。用毛笔轻触螨体,螨足只有 1~2 只动或不动计为死亡,对照死亡率在 5%以下为有效

试验^[18]。

1.2.2 亚致死剂量处理 根据室内毒力测定结果,用 LC₁₀ 和 LC₃₀ 亚致死剂量浓度处理二斑叶螨,根据试验需要每个处理在每个时间点重复 3 次,以相同配比的二甲基亚砷水溶液处理为对照,置人工气候箱内。药剂处理后分别于 3、6、12、24、48 h 用 2 mL 离心管收集存活雌成螨,每离心管约 100 头,置于-20℃冰箱待用。

1.2.3 酶源制备 在收集的雌成螨离心管内,加入 0.04 mmol/L pH 7.0 磷酸缓冲液、66 mmol/L pH 7.0 磷酸缓冲液和 0.1 mol/L pH 7.8 磷酸缓冲液至 2 mL,研磨,匀浆,4℃,12 000 r/min 离心 15 min,取上清液,备用。

1.2.4 酶源蛋白含量测定 参照 Bradford 考马斯亮蓝 G-250 法^[19]。

1.2.5 解毒酶比活力测定 谷胱甘肽 S-转移酶比活力参照何恒果^[13], Clark^[20] 等的方法测定,并稍有改动;羧酸酯酶酶比活力参照何恒果^[13] 等的方法测定;多功能氧化酶酶比活力参照 Kim^[21] 等的方法测定。

1.2.6 数据分析 数据用 Excel 2019 和 SPSS 25.0 软件进行统计分析,采用 Duncan 进行显著性检验。

2 结果与分析

2.1 苦参碱对二斑叶螨的毒力

根据毒力测定结果,计算出毒力回归方程: $y = -0.27 + 0.61x$,相关系数 $R^2 = 0.987$,显著性 $P = 0.968$,卡方值 $\chi^2 = 0.925$,计算出 $LC_{50} = 2.917 \text{ mg/L}$ ($1.764 \sim 4.653 \text{ mg/L}$), $LC_{30} = 0.385 \text{ mg/L}$ ($0.150 \sim 0.720 \text{ mg/L}$), $LC_{10} = 0.021 \text{ mg/L}$ ($0.003 \sim 0.064 \text{ mg/L}$),括号内为 95% 置信区间。

2.2 解毒酶比活力变化

2.2.1 亚致死剂量苦参碱对二斑叶螨体内谷胱甘肽 S-转移酶比活力的影响 苦参碱明显提高了二斑叶螨体内 GSTs 比活力。 LC_{10} 剂量处理后 3、6、12、24、48 h GSTs 的比活力分别为 15.804 6、20.438 2、16.583 6、26.876 3、25.253 7 $\mu\text{mol}/(\mu\text{g} \cdot \text{min})$,与对照组相比,分别提高了 48.97%、26.75%、37.28%、45.96%、55.49%; LC_{30} 剂量处理后 3、6、12、24、48 h GSTs 的比活力分别是 13.964 4、16.639 2、12.134 2、30.146 4、25.276 4 $\mu\text{mol}/(\mu\text{g} \cdot \text{min})$,与对照组相比,分别提高了 42.25%、10.02%、14.28%、51.82%、55.54%;对照组有两次升高,分别在 6、24 h 达到最大(图 1)。

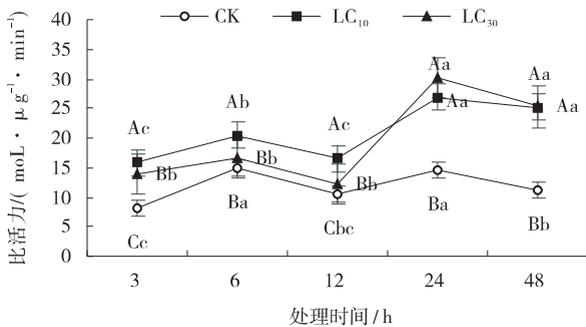


图 1 亚致死剂量苦参碱处理下二斑叶螨体内 GSTs 比活力
Fig. 1 The activity of GSTs in *T. urticae* under the treatment of sublethal doses concentration of matrine

注:图中不同小写字母表示同一处理下不同时间解毒酶比活力差异显著($P < 0.05$),不同大写字母表示同一时间不同处理解毒酶比活力显著差异($P < 0.05$),下图同

2.2.2 亚致死剂量苦参碱对二斑叶螨体内羧酸脂酶比活力的影响 苦参碱明显提高了二斑叶螨体内 CarE 的比活力。 LC_{10} 剂量处理后,3、6、12、24、48 h CarE 的比活力分别为 2.586 6、2.464 0、2.759 4、2.255 9、2.772 3 $\mu\text{mol}/(\mu\text{g} \cdot \text{min})$,与对照组相比,分别提高了 17.74%、34.35%、38.64%、31.97%、46.44%,且差异显著($P < 0.05$),CarE 比活力在 6 h 以

前先缓慢降低再升高,12 h 最大,而后逐渐波动; LC_{30} 剂量处理后,3、6、12、24、48 h CarE 比活力分别是 2.780 6、3.115 8、3.135 2、3.387 9、3.075 3 $\mu\text{mol}/(\mu\text{g} \cdot \text{min})$,与对照组相比,分别提高了 23.48%、48.08%、45.99%、54.70%、51.72%,CarE 比活力整体呈缓慢升高再降低的趋势,处理后持续至 24 h 达最大,随后逐渐降低;对照组 CarE 比活力整体呈下降的趋势,在 6 h 后有缓慢上升(图 2)。

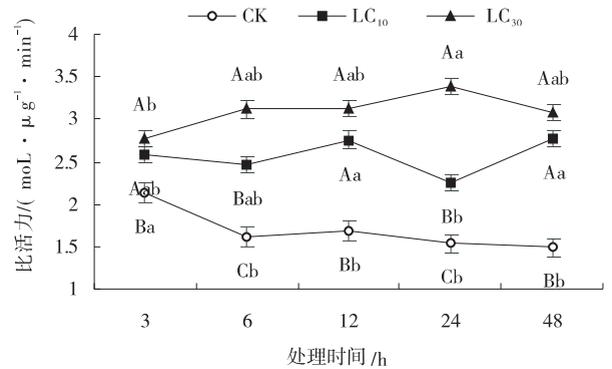


图 2 亚致死剂量苦参碱处理下二斑叶螨体内 CarE 比活力
Fig. 2 The activity of CarE in *T. urticae* under the treatment of sublethal doses concentration of matrine

2.2.3 亚致死剂量苦参碱对二斑叶螨体内多功能氧化酶比活力的影响 二斑叶螨体内 MFO 的比活力都有所提高(图 3)。 LC_{10} 剂量处理后 3、6、12、24、48 h MFO 的比活力分别为 2.235 5、2.141 4、1.846 9、0.712 7、2.185 6 $\mu\text{mol}/(\mu\text{g} \cdot \text{min})$,与对照组相比,分别提高了 44.82%、0%、29.24%、17.11%、23.69%,变化趋势为在 3~24 h 持续缓慢降低,24 h 时最低,随后逐渐升高,其中 3、12 和 48 h 比活力显著高于对照($P < 0.05$); LC_{30} 剂量处理后 3、6、12、24、48 h MFO 比活力分别是 1.629 1、2.580 7、3.612 9、1.763 4、2.533 6

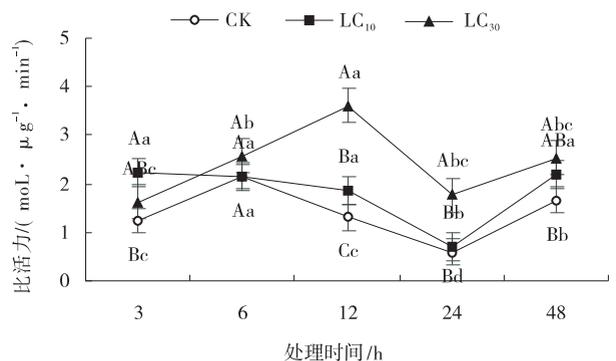


图 3 亚致死剂量苦参碱处理下二斑叶螨体内 MFO 比活力
Fig. 3 The activity of MFO in *T. urticae* under the treatment of sublethal doses concentration of matrine

$\mu\text{mol}/(\mu\text{g} \cdot \text{min})$, 与对照组相比, 分别提高了 24.28%、16.93%、63.83%、66.49%、34.17%, 其中在 3~12 h 迅速升高, 而后降低再升高, 在 12 h 达到最大, 且除了 3 h 以外, 其余时间点的比活力均高于 LC_{10} ; 对照组比活力先升高再缓慢降低, 6 h 后达到最大, 与其余时间点差异显著 ($P < 0.05$), 且波动较大。

3 讨论

有害生物抗药性是指害螨、害虫等具有耐受杀死正常种群大部分个体药量的能力, 并在其自然种群中发展起来的现象, 是害螨(虫)在不利环境条件下经过自然选择而生存下来的一种本能^[22]。通过测定解毒酶等生化指标来研究杀螨(虫)剂的亚致死效应已经成为预测害虫产生抗药性或者再猖獗的重要内容^[23]。杀螨(虫)剂的亚致死效应是指用杀螨(虫)剂的亚致死剂量处理供试害虫后, 其虫体在生物学和生态学行为上表现出的某些变化^[24]。

多数研究认为, 害螨(虫)抗药性的产生与其体内 GSTs、CarE 和 MFO 3 大解毒酶比活力的升高有关^[25]。本试验研究了用亚致死剂量 LC_{10} 和 LC_{30} 的苦参碱处理二斑叶螨 48 h 后, 其体内解毒酶比活力的变化情况。研究发现, 亚致死剂量处理后的二斑叶螨解毒酶比活力有一定的时间及浓度效应。浓度越大, 对解毒酶的影响程度就越大, 且处理后的酶比活力在不同时间点有不同程度的升高, 一般在 24 h 左右达到最大值。

何林等^[26]报道, 羧酸酯酶比活力的改变导致朱砂叶螨对阿维菌素产生抗性; 而橘全爪螨对阿维菌素产生抗性的主要原因是乙酰胆碱脂酶比活力的提高^[27]; 赵卫东等^[28]提出二斑叶螨对阿维菌素产生抗性的主要原因是谷胱甘肽-S-转移酶和多功能氧化酶比活力增强的结果。本试验结果表明, 在苦参碱亚致死剂量浓度药液处理后, 二斑叶螨体内解毒酶比活力会随时间发生改变, 但整体上, 3 大解毒酶的比活力较对照都有所增加, 这与前人的研究结果一致^[27]。且在相同时间点, LC_{30} 处理组的酶比活力基本都高于 LC_{10} 处理组, LC_{10} 处理组的酶比活力都高于对照组, 说明剂量越高, 浓度越大, 对解毒酶的影响程度就越大, 这与汝阳等^[29]的研究结果一致。

本试验结果对苦生碱的使用可提供理论依据。但本试验仅以二斑叶螨室内敏感种群雌成螨为研究对

象, 测定了苦参碱亚致死剂量短期胁迫下螨体内解毒酶比活力的变化情况, 如继续研究探讨二斑叶螨对苦参碱的抗性, 需结合酶学动力常数的变化规律及分子基因层面进一步系统地研究。

4 结论

(1) 经苦参碱处理后, 二斑叶螨体内 GSTs 比活力与对照相比, LC_{10} 剂量处理 3、6、12、24、48 h GSTs 的比活力分别提高了 48.97%、26.75%、37.28%、45.96%、55.49%; LC_{30} 剂量处理后 3~48 h 相应的 5 个时间点 GSTs 比活力分别提高了 42.25%、10.02%、14.28%、51.82%、55.54%。

(2) 苦参碱明显提高了二斑叶螨体内 CarE 的比活力。与对照组相比, LC_{10} 剂量处理 3、6、12、24、48 h CarE 的比活力分别提高了 17.74%、34.35%、38.64%、31.97%、46.44%, 且差异显著 ($P < 0.05$); LC_{30} 剂量处理后 CarE 的比活力分别提高了 23.48%、48.08%、45.99%、54.70%、51.72%。

(3) 处理后二斑叶螨体内 MFO 的比活力都有所提高。 LC_{10} 剂量处理后 3、6、12、24、48 h MFO 的比活力与对照相比, 分别提高了 44.82%、0%、29.24%、17.11%、23.69%; LC_{30} 剂量处理后 MFO 的活性与对照相比, 分别提高了 24.28%、16.93%、63.83%、66.49%、34.17%。

参考文献:

- [1] 张廷伟, 沈慧敏, 钱秀娟, 等. 二斑叶螨刺吸胁迫对白三叶叶绿素含量和两种保护酶的影响[J]. 应用昆虫学报, 2013, 50(2): 395-400.
- [2] 杨顺义. 二斑叶螨对阿维菌素和螺虫乙酯的抗性机理研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2014.
- [3] 贺达汉, 赵晓萍, 靳巧红, 等. 宁夏地区二斑叶螨的寄主植物选择及其季节转移[J]. 应用与环境生物学报, 2001, 7(5): 447-451.
- [4] 徐学农, 吕佳乐, 王恩东. 国际捕食螨研发与应用的热点问题及启示[J]. 中国生物防治学报, 2013, 29(2): 163-174.
- [5] 来守国, 高欢欢, 翟一凡, 等. 3 种杀虫剂亚致死浓度对斑翅果蝇和黑腹果蝇体内解毒酶的影响[J]. 环境昆虫学报, 2018, 40(3): 676-683.
- [6] 宋丽雯. 截形叶螨对哒螨灵抗性遗传方式及风险研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2014.
- [7] 张新虎. 二点叶螨对甲氧菊酯、氧乐果和四螨嗪抗药性的

- 选育、衰退和恢复[J]. 昆虫学报, 2002, 45(3): 341-345.
- [8] 高萍, 周玉书, 孟祥梅, 等. 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[J]. 沈阳农业大学学报, 2012, 43(5): 599-602.
- [9] 沈一凡, 沈慧敏, 岳秀丽, 等. 二斑叶螨抗阿维菌素品系选育及其解毒酶系活力变化[J]. 植物保护, 2014, 40(5): 44-48.
- [10] 李瑞娟, 王开运, 夏晓明. 二斑叶螨对梅岭霉素和溴虫脲的抗性选育及其解毒酶活力变化[J]. 植物保护学报, 2005, 32(3): 309-313.
- [11] 高新菊, 沈慧敏. 二斑叶螨对甲氧菊酯的抗性选育及解毒酶活力变化[J]. 昆虫学报, 2011, 54(1): 64-69.
- [12] 高新菊, 张志刚, 段辛乐, 等. 二斑叶螨抗四螨嗪品系筛选及其解毒酶活力变化[J]. 中国农业科学, 2012, 45(7): 1432-1438.
- [13] 何恒果. 桔全爪螨对甲氧菊酯和阿维菌素的抗性及其酯酶基因的克隆与表达研究[D]. 重庆: 西南大学, 2010.
- [14] 华乃震. 新型高效、低毒杀螨剂产品的综述[J]. 世界农药, 2016, 38(3): 25-34+39.
- [15] 邱德文. 生物农药研究进展与未来展望[J]. 植物保护, 2013, 39(5): 81-89.
- [16] 李恒羽, 谢爱婷, 张智, 等. 植物精油对二斑叶螨的室内毒力及田间防效[J]. 中国植保导刊, 2018, 38(4): 62-64.
- [17] FAO. Revised method for spider mites and their egg (e. g. *Tetranychus* spp. and *Panonychus ulmi* Koch) [J]. FAO Plant Production and Protection, 1980 (21): 49-54.
- [18] 唐小凤, 张友军, 吴青君, 等. 杀螨剂对截形叶螨的毒力及助剂对杀螨剂的增效作用研究[J]. 环境昆虫学报, 2013, 35(3): 322-327.
- [19] Bradford W W. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Anal Biochem, 1976, 72: 248-254.
- [20] Clark J M, Lee S H, Kim H J, et al. DNA-based genotyping techniques for the detection of point mutations associated with insecticide resistance in Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* [J]. Pest Management Science, 2001, 57(10): 968-974.
- [21] Kim Y, Park H, Cho J, et al. Multiple resistance and biochemical mechanisms of pyridaben resistance in *Tetranychus Urticae* (acari: *Tetranychidae*) [J]. Journal of Economic Entomology, 2006, 99(3): 954-958.
- [22] 段入心, 孟雷, 王宁新. 昆虫共生菌介导的抗药性研究进展[J]. 生物技术通报, 2019, 35(9): 29-34.
- [23] 田雪莲, 尹显慧, 龙友华, 等. 低剂量乙基多杀菌素对小菜蛾解毒酶的影响[J]. 农药学报, 2016, 18(5): 589-595.
- [24] 汝阳. 阿维菌素和哒螨灵对巴氏新小绥螨的亚致死效应研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2016.
- [25] 张红英, 赤国彤, 张金林. 昆虫解毒酶系与抗药性研究进展[J]. 河北农业大学学报, 2002, 25(S1): 193-195.
- [26] He Lin, Xue Chuanhua, Wang Jinjun, et al. Resistance selection and biochemical mechanism of resistance to two acaricides in *Tetranychus cinnabarinus* (Boiduval) [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2009, 93 (1): 47-52.
- [27] 孟和生. 桔全爪螨抗药性检测及抗性机理[D]. 泰安: 山东农业大学, 2002.
- [28] 赵卫东, 王开运, 姜兴印, 等. 二斑叶螨对阿维菌素、哒螨灵和甲氧菊酯的抗性选育及其解毒酶活力变化[J]. 昆虫学报, 2003, 46(6): 788-792.
- [29] 汝阳, 陈耀年, 尚素琴, 等. 阿维菌素亚致死剂量对二斑叶螨解毒酶系的影响[J]. 甘肃农业大学学报, 2017, 52(1): 87-91+96.

The effect of matrine on detoxification enzymes in *Tetranychus urticae*

JIN Jing, YANG Shun-yi, SHANG Su-qin, YE Tiao-qin

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

Abstract: In this study, the effect of sublethal dose of matrine on the activities of detoxification enzymes in *Tetranychus urticae* was explored to explain the resistance of *T. urticae* to matrine and provide evidence for sci-

entific using in matrine. The sublethal dose of matrine, LC_{10} (0.021 mg/L) and LC_{30} (0.385 mg/L), were used to treat the female adults of *T. urticae* by the method of slide dipping, and the enzyme activities of glutathione S-transferases (GSTs), carboxylesterases (CarE), and multifunctional oxidases (MFO) were measured and analyzed after treatment for 3, 6, 12, 24, and 48 h. The results showed that after treatment with LC_{10} and LC_{30} , the activities of CarE, GSTs, and MFO in female adult mites of *T. urticae* increased in varying degrees compared with the control. The activities of CarE and MFO (except 3 h) in LC_{30} treatment were higher than that in LC_{10} treatment, and the activity was the largest within 12~24 h; the GSTs activity in LC_{10} treatment was significantly ($P < 0.05$) higher than that in LC_{30} treatment at 3 h, 6 h, and 12 h, and reached the maximum at 24 h. It showed that the spider mite had the strongest detoxification metabolism to Matrine within 12~24 h. With the increase of matrine concentration, the activities of CarE and MFO increased, while the activity of GSTs did not change significantly.

Key words: *Tetranychus urticae*; matrine; sublethal dose; detoxifying enzymes

(上接 88 页)

Correlation between the cold resistance of alfalfa varieties and their fall dormancy

TONG Chang-chun, LIU Xiao-jing, YUN Xiang-kai, WU Yong

(College of Grassland Science, Gansu Agricultural University/Key Laboratory for Grassland Ecosystem of Ministry of Education/Pratacultural Engineering Laboratory of Gansu Province/Sino-U. S. Centers for Grazing Land Ecosystem Sustainability, Lanzhou 730070, China)

Abstract: The lack of high-quality leguminous pasture resources has become a factor that limiting the production and sustainable development of high-quality pastures in the cold regions of northern China. In this study, 16 low fall-dormancy alfalfa cultivars were used as materials to study their cold resistance by pot of soil culture. At the same time, principal component analysis and membership function method were used to evaluate the cold resistance, and regression analysis of alfalfa cold resistance and fall dormancy grade was conducted by linear regression method. The purpose of this study was to selected high cold resistant alfalfa cultivars that can be planted in cold areas, and explore the correlation between cold resistance and fall-dormancy grade. The results showed that Longmu 801 and Longmu 806 had the best cold resistance compared to other alfalfa cultivars among the 16 alfalfa cultivars. The cold resistance of Gannong NO. 2 was followed Longmu 801 and Longmu 806, and the cold resistance of Juneng 551 was the worst. There was a significant negative correlation between cold resistance and fall dormancy index of alfalfa ($R^2 = 0.92$), the fall-dormancy was lower, the cold resistance was stronger of alfalfa. Therefore, It has the practical value to predict the cold resistance of alfalfa by using fall-dormancy characteristics in the introduction and production.

Key words: alfalfa; cold resistance; fall-dormancy grade; correlation