

文章编号:1000-2642(2005)02-0151-04

嗜卷书虱抗性与敏感品系乙酰胆碱酯酶的比较

陶卉英,王进军*,丁伟,赵爽

(西南农业大学 植物保护学院,重庆 400716)

摘要:对嗜卷书虱(*Liposcelis bostrychophila* Badonnel)DDVP 抗性品系(RDDVP)和 PH_3 抗性品系(RPH_3)乙酰胆碱酯酶(AChE)的生物化学性质进行了初步研究。比较发现嗜卷书虱 RDDVP 品系和 RPH_3 品系的酶原蛋白均显著高于敏感品系($P < 0.05$),2 个抗性品系间也存在着显著差异($P < 0.05$)。RDDVP 和 RPH_3 品系的 AChE 活力和比活力都明显低于敏感品系,且差异均达到了显著水平($P < 0.05$)。RDDVP 品系的 K_m 值较敏感品系显著升高($P < 0.05$),是敏感品系的 1.33 倍,说明酶发生了质的变化,与底物的亲和能力显著降低;而 RPH_3 品系无显著变化。从 $V_{\max}$ 看, RDDVP 无明显变化,而 RPH_3 却显著降低($P < 0.05$)。研究结果表明,2 个抗药性品系都存在靶标抗性,其抗性的形成与 AChE 在量(或)质上的变化有一定的相关性。

关键词:嗜卷书虱(*Liposcelis bostrychophila*);抗性;乙酰胆碱酯酶;活力;米氏常数

中图分类号:Q 969.31+2.4

文献标识码:A

COMPARISONS OF ACETYLCHOLINESTERASE IN THE RESISTANT AND SUSCEPTIBLE STRAINS OF *LIPOSCELIS BOSTRYPHILA* BADONNEL

TAO Hui - ying, WANG Jin - jun*, DING Wei, ZHAO Shuang

(College of Plant Protection, Southwest Agricultural University, Chongqing 400716, China)

Abstract: The biochemical characteristics of acetylcholinesterase (AChE) in the resistant and susceptible strains of *Liposcelis bostrychophila* were investigated. The contents of zymoprotein of the DDVP - and PH_3 - resistant strains (RDDVP and RPH_3) were significantly higher than those of their susceptible counterparts ($P < 0.05$) and significant difference was also observed between RDDVP and RPH_3 . The activity and specific activity of AChE in RDDVP and RPH_3 were obviously reduced as compared with their susceptible counterparts ($P < 0.05$). The apparent Michaelis - Menten constant (K_m) of the RDDVP strain was 1.33 fold that of the susceptible strain, indicating that AChE might have changed in quality. AChE K_m of RPH_3 , however, showed no significant change. Maximum velocity ($V_{\max}$) did not change significantly in RDDVP, but did change significantly in RPH_3 . It is thus postulated that target resistance exists in both resistant strains studied and the formation of resistance may be correlated with the quantity and/or quality of AChE.

Key words: *Liposcelis bostrychophila*; resistance; acetylcholinesterase (AChE); activity; Michaelis constant (K_m)

嗜卷书虱 *Liposcelis bostrychophila* Badonnel 属于啮目 Psocoptera、虱啮科 Liposcelidae、虱啮属 *Liposcelis*, 是一种多发生在热带和亚热带地区的储粮害虫^[1]。在我国不仅大量发生于普通粮仓中, 致使储粮霉变受污染, 造成严重经济损失, 且已发展成为

“双低(低氧、低药剂)”和“3 低(低氧、低药剂、低温)”储粮中的害虫优势种群^[2~3]。该虫对化学药剂的抗性发展很快, 常规熏蒸很难彻底控制其发生危害。而且由于繁殖很快, 在熏蒸或化学药剂处理后不

收稿日期:2004-10-05

基金项目:国家自然科学基金(30471173)、教育部高等学校博士点专项科研基金(20040625006)资助项目

作者简介:陶卉英(1979-),女,江西奉新人,西南农业大学硕士研究生,从事昆虫生化及分子毒理研究。

* 为通讯作者

久又能重新危害储藏物,国内外学者探讨了许多控制该虫危害的方法,其中,有机磷杀虫剂有较好的效果^[4~5]。

乙酰胆碱酯酶(AChE)是有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂的靶标酶。有研究表明有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂对嗜卷书虱和嗜虫书虱AChE具有强烈的抑制作用^[6],而关于书虱抗性品系AChE生物化学特性的研究国内外尚无系统的报道。据此,我们以嗜卷书虱(*L. bostrychophila*)作为试虫,较为系统地对DDVP和PH₃抗性品系和敏感品系的AChE进行比较。借以明确书虱对DDVP和PH₃抗性的形成是否与AChE有关系,这对于从理论上阐明书虱抗药性的生理生化机理,研究书虱对有机磷杀虫剂和无机磷杀虫剂抗性之间是否有交互抗性问题,以及在实际制订害虫综合治理、延缓抗性发展和抗性治理方案等均具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

敏感品系(S):1990年采自西南农业大学应用昆虫与螨类生态研究室的模拟粮仓中。饲养方法参照丁伟等^[7]的方法。在实验室27±0.5℃,75%~80% RH、不予光照、不接触任何药剂的条件下以全麦粉、酵母粉和脱脂奶粉(10:1:1)混合而成的饲料饲养若干代获得的纯品系。

敌敌畏抗性品系(RDDVP品系):饲养方法同上,每隔15 d用敌敌畏丙酮溶液熏蒸处理1次,保持成虫的死亡率在70%左右,共处理45次,所获得的品系作为抗敌敌畏的品系。

磷化氢抗性品系(RPH₃品系):饲养方法同上,每隔15 d用一定量的PH₃气体熏蒸处理1次,保持成虫的死亡率在70%左右,共处理45次,所获得的品系作为抗磷化氢的品系。

生物测定和生化指标测定以羽化后2~5 d的成虫作为试虫。

1.2 主要供试药剂和仪器

1.2.1 供试药剂 80%敌敌畏(Dichlorvos, DDVP)乳油(湖北沙隆达股份有限公司);56%磷化铝(ALP)片剂(山东济宁化工厂生产)。

1.2.2 主要试剂 考马斯亮蓝G-250(Coomassie brilliant blue G-250)(上海化学试剂公司);毒扁豆碱(Eserine)(Sigma公司);牛血清白蛋白 Albumin(上海伯奥生物科技有限公司);碘化硫代乙酰胆碱(ATChI)(Fluka公司);5,5'-二硫双硝基苯甲酸

(DTNB)(Fluka公司);以上试剂均为分析纯。

1.2.3 主要仪器 UV-8500型紫外分光光度计(上海天美科学仪器有限公司产品)。

1.3 生物测定

分别挑取各品系嗜卷书虱成虫20头于小塑料盒中,用160目尼龙丝网作盒盖,将1盒敏感品系和1盒抗性品系同时放入一干净的500 mL的广口瓶内,分别用DDVP和PH₃熏蒸处理24 h后打开瓶塞,自然条件下放置24 h后检查试虫死亡情况,计算各处理的校正死亡率。用丙酮作对照。每处理重复3次。采用唐启义等^[8]的DPS处理系统,用机率值分析法计算LC₅₀。

1.4 酶原蛋白含量的测定

1.4.1 酶液的制备 挑取各品系成虫600头,加入1.5 mL,0.1 M pH 8.0的PBS(含1% Triton)匀浆,匀浆液转入1.5 mL离心管,静置30 min后于4℃,20 000 g离心60 min,取上清液备用。

1.4.2 蛋白质标准曲线的制作 参照Bradford^[9]考马斯亮蓝G-250法。不同含量(0, 20, 40, 60, 80, 100 μg)的牛血清白蛋白与0.01%考马斯亮蓝G-250在25℃条件下反应,5 min内在595 nm下测其OD值。然后以牛血清白蛋白含量(μg)为横坐标,OD值为纵坐标制作标准曲线。

1.4.3 嗜卷书虱体内酶原蛋白含量测定 参照Bradford^[9]考马斯亮蓝G-250法进行测定,根据标准曲线求出嗜卷书虱体内酶原蛋白质含量(μg Pro/insect)。

1.5 AChE活性及米氏常数的测定

1.5.1 酶液制备 酶液制备方法同1.4.1。

1.5.2 活性测定 参照Ellman^[10]方法并加以改进。用碘化硫代乙酰胆碱(ATChI)作底物,经AChE水解后生成硫代胆碱和乙酸,与显色剂DTNB生成黄色物质,以毒扁豆碱终止反应,在412 nm处测其OD值。并计算AChE比活力(nmol·min⁻¹·mg pro⁻¹)。

1.5.3 AChE米氏常数即K_m和V_{max}值的测定 反应液总体积为2.4 mL,底物浓度为0.06,0.12,0.24,0.48,0.6,1.5 mmol/L。在28℃条件下于412 nm处时间扫描500 s。

2 结果与分析

2.1 生物测定结果

嗜卷书虱不同品系对DDVP和PH₃的敏感性生物测定结果如表1所示:

对表 1 所得直线方程用 X^2 进行适合度测定,经 X^2 检验,均达显著水平。从表 1 可以看出,嗜卷书虱对 2 种药剂都比较敏感,但 DDVP 处理更为敏感。以敏感品系 LC_{99} 作为诊断剂量,2 个抗性品系的死亡率均为 0,这一结果表明,经过一定时间和一定药剂的处理,可以获得嗜卷书虱对 DDVP 和 PH_3 的抗性品系,虽然抗性指数并不高,但已经形成了明显的抗性。这说明,在 DDVP 和 PH_3 的长期处理下,嗜卷书虱将

发展出对这 2 种药剂耐药性或者抗性,这种耐药性或抗性的产生可能与该虫体内的一些酶系有密切的关系,根据抗性形成与昆虫体内酶系的关系,在低抗水平,抗性的形成主要与解毒酶系有关系,当形成高抗品系时,则可能与靶标酶系有关系。本研究虽然没有形成明显的高抗品系,但却已经形成了明显的抗性品系,在这种情况下,是否与靶标酶有关系,这就需要测定靶标酶的活性和一些生理生化指标。

表 1 嗜卷书虱对 DDVP 和 PH_3 抗性品系的选育结果Table 1 Results of the selection with DDVP, PH_3 , by *L. bostrychophila*

品 系 Strain	毒力回归线 Toxic regression line LC - p line	LC_{50} $/(\mu g \cdot L^{-1})$	抗性指数 Resistance factor (RF)	诊断剂量 Diagnostic dose $LC_{99}/(\mu g \cdot L^{-1})$	抗性个体频率 Frequency of resistant individual
S DDVP	$9.0040 + 6.8223 x$	0.02589 ± 0.0050	--	--	--
R DDVP	$1.8210 + 7.5298 x$	0.26435 ± 0.0466	10.2105	0.05677	100
S PH_3	$-9.8270 + 11.3207 x$	10.2022 ± 0.1121	--	--	--
R PH_3	$-22.6209 + 14.0655 x$	45.9941 ± 0.4155	4.5083	16.3753	100

注:S:敏感品系;R:选育品系。S:susceptible strain; R: selected strain; RF: resistance factor; LC_{50} the exposure concentration to achieve 50% mortality; LC_{99} the exposure concentration to achieve 99% mortality.

2.2 酶原蛋白的测定

以牛血清白蛋白为标准蛋白测得蛋白质标准曲线结果为: $y = 0.03084 + 6.442 \times 10^{-3} x$ (其中 y 代表 OD 值, x 代表蛋白质含量 μg)。

根据蛋白质标准曲线和所测酶液的 OD 值,计算出嗜卷书虱敏感品系和抗性品系的酶原蛋白含量,结果见表 2。嗜卷书虱抗药性品系体内酶原蛋白含量显著高于敏感品系 ($P < 0.05$),其中 RPH_3 品系最高,为 $6.2274 \pm 0.0024 \mu gPro/insect$,是敏感品系的 1.2 倍。

2.3 嗜卷书虱抗性品系和敏感品系 AChE 活性

2.3.1 AChE 比活力的比较 嗜卷书虱抗药性品系和敏感品系 AChE 的活力测定结果如表 3 所示。RDDVP 和 RPH_3 AChE 的活力和比活力较敏感品系都显著降低了 ($P < 0.05$),而 2 个抗性品系之间并无明显的差异,表明乙酰胆碱酯酶在抗性形成中起着一定的作用。

2.3.2 AChE K_m 值和 V_{max} 值的比较 从表 4 可知,与敏感品系相比,嗜卷书虱 RPH_3 品系 K_m 没有显著

变化,表明酶没有发生质的改变,而 RDDVP 品系 AChE 的 K_m 值显著升高 ($P < 0.05$),是敏感品系的 1.33 倍,说明酶发生了质变,对底物乙酰胆碱的亲能力显著降低。RDDVP 的 V_{max} 微高于敏感品系,但没有显著差异,而 RPH_3 的 V_{max} 显著低于敏感品系, RDDVP 和 RPH_3 之间的 V_{max} 无显著差异。

表 2 嗜卷书虱抗性品系和敏感品系酶原蛋白含量

Table 2 The content of protein of the resistant and the susceptible strains of *L. bostrychophila*

品 系 Strain	敏感品系 S	敌敌畏 抗性品系 RDDVP	磷化氢 抗性品系 RPH_3
OD ₅₉₅	0.4835 ± 0.0033 a	0.5021 ± 0.0030 b	0.5717 ± 0.0042 b
酶原蛋白含量 Protein content $/\mu g Pro \cdot insect^{-1}$	5.1972 ± 0.0020 a	5.4145 ± 0.0017 b	6.2274 ± 0.0024 c

注:1) 所有实验均为 3~4 个重复;2) 数据后字母表示差异显著性分析,不同字母表示在 $P < 0.05$ 水平上存在差异,下同。Note: 1) 3~4 replicates; 2) The different letters in the same column indicate significant difference at $P < 0.05$ level; the same below.

表 3 嗜卷书虱抗性品系和敏感品系 AChE 活力比较结果

Table 3 The AChE activities in the resistant and the susceptible strains of *L. bostrychophila*

品 系 Strain	AChE 活力和比活力 AChE activity and specific activity			
	活 力 $/(\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{insect}^{-1})$	比 率 Ratio	比活力 $/(\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg pro}^{-1})$	比 率 Ratio
敏感品系 S	222.0155 ± 0.0020 a	1.00	42.7183 ± 1.6837 a	1.00
敌敌畏抗性品系 RDDVP	199.3981 ± 0.0020 b	0.90	36.8267 ± 1.7790 b	0.86
磷化氢抗性品系 RPH_3	208.6224 ± 0.0000 b	0.94	33.5007 ± 0.2149 b	0.78

表4 嗜卷书虱抗性品系和敏感品系的AChE的 K_m 和 V_{max} Table 4 The K_m and V_{max} values of AChE of the resistant and the susceptible strains of *L. bostrychophila*

品系 Strain	米氏常数 K_m /mmol · L ⁻¹	比率 Ratio	最大反应速度 V_{max} /nmol · mg ⁻¹ · min ⁻¹	比率 Ratio
敏感品系 S	0.1759 ± 0.0108 a	1.00	148.9083 ± 4.1328 a	1.00
敌敌畏抗性品系 RDDVP	0.2383 ± 0.0161 b	1.33	161.7286 ± 4.0002 a	1.11
磷化氢抗性品系 RPH ₃	0.2006 ± 0.0035 ab	1.14	132.4480 ± 4.2151 b	0.92

3 讨论

RDDVP 和 RPH₃ 的酶原蛋白均显著高于敏感品系($P < 0.05$), 2 个抗性品系间也存在着显著差异($P < 0.05$), 其中 RPH₃ 的酶原蛋白含量最高。这说明, 经过一定时间的药剂处理后, 嗜卷书虱体内酶原蛋白发生了显著变化, 而这种变化可能导致该虫对药剂的敏感性发生变化。从表 1 的结果可以看出, 在 DDVP 和 PH₃ 处理后其抗性变化的趋势基本相似, 抗性指数差异不大, 但是 PH₃ 处理的品系其酶原蛋白的量的变化要比 DDVP 处理品系的酶原蛋白变化程度大一些, 因此, 2 个抗性品系的形成除了与酶原蛋白的量有关外, 还可能与酶原蛋白的性质有关。

AChE 是昆虫体内杀虫剂重要的靶标酶, AChE 在量和质上的变化可能与昆虫对杀虫剂产生的抗性有关。对上述嗜卷书虱的 2 个抗药性品系和敏感品系 AChE 活力比较表明, RDDVP 品系和 RPH₃ 品系 AChE 的活力都明显低于敏感品系, 且差异均达到了显著水平($P < 0.05$), 而且 RDDVP 品系的 K_m 值也显著升高($P < 0.05$), 说明该酶发生了质变, 导致酶和底物的结合能力显著降低, 表明存在明显的靶标抗性。从表 3 和表 4 可以看出, RPH₃ 品系 AChE 的活力、比活力和 V_{max} 相对敏感品系都显著降低($P < 0.05$), 而 K_m 值并没有明显的变化, 表明 RPH₃ 品系 AChE 活性降低可能与其抗性形成有关。

本项研究的结果表明, 对嗜卷书虱的抗药性和敏感品系 AChE 研究发现 RDDVP 品系 AChE 质变导致与底物的结合能力显著降低, 这可能存在以下导致 AChE 生化特性发生改变的原因: 一是 AChE 活性部位的某些氨基酸发生了突变, 导致 AChE 的结构发生了变化所致^[11-13], AChE 结构改变导致与底物亲和能力降低; 二是存在 2 种 AChE^[14-16], AChE 1 和 AChE 2, 这 2 种 AChE 都可能与昆虫的抗性有关。昆虫经药剂筛选后可能诱导不同基因位点的表达, 从而酶学特性发生改变。总之, 本实验揭示了嗜卷书虱抗

性品系和敏感品系 AChE 生化特性差异的存在, 导致这种差异的真正原因有待于进一步的研究。

参考文献:

- [1] 李志红, 李法圣. 中国虱啮属四新种[J]. 北京农业大学学报, 1995, (2): 215-222
- [2] 王进军, 赵志模, 吴仕源, 等. 不同温度下气调对嗜虫书虱急性致死作用研究[J]. 西南农业大学学报, 1994, 16(1): 70-74
- [3] 丁伟, 李隆术, 赵志模. 书虱综合防治技术研究进展[J]. 粮食储藏, 2001, 30(4): 3-6
- [4] Nayak M K, Collins P J, Kopittke R A. Comparative residual toxicities of carbaryl, deltamethrin and permethrin as structural treatments against three liposcelidid psocid species (Psocoptera: Liposcelididae) infesting stored commodities[J]. J. Stored Prod. Res., 2002, 38: 247-258
- [5] 丁伟, Shaaye E, 王进军, 等. 两种昆虫生长调节剂对嗜卷书虱的致死作用研究[J]. 动物学研究, 2002, 23(2): 173-176
- [6] 程伟霞, 王进军, 赵志模, 等. 四种杀虫剂对两种书虱羧酸酯酶和乙酰胆碱酯酶的抑制作用[J]. 动物学研究, 2004, 25(4): 321-326
- [7] 丁伟, 王进军, 赵志模. 书虱实验种群饲养技术研究[J]. 西南农业大学学报, 2001, 23(4): 304-306
- [8] 唐启义, 冯明光. 实用统计分析及其计算机处理平台[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997
- [9] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding[J]. Anal. Biochem., 1976, 72: 248-254
- [10] Ellman G L, Courtney K D, Andres U, et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity[J]. Biochem. Pharmacol., 1961, (7): 88-95
- [11] Fournier D, Mutero A. Modification of acetylcholinesterase as a mechanism of resistance to insecticides[J]. Comp. Biochem. Physiol., 1994, 108c: 19-31

(下转第 192 页)

然保护区九大湖调查认为蜡状芽孢杆菌、短小芽孢杆菌、环状芽孢杆菌和蕈状芽孢杆菌是主要种类,巨大芽孢杆菌也有分离,但不是主要种类。张华勇等^[2]研究红壤不同生态条件下芽孢杆菌的变化情况中发现,巨大芽孢杆菌随耕作程度增加逐渐成为优势,可见本研究中巨大芽孢杆菌作为主要种类是与该区域土壤耕作程度相符的。土壤微生物的研究结果与研究方法存在密切的关系,本文采用的稀释平板法虽不能全面反映该区域的实际情况,但可以反映芽孢杆菌在微生物群体中的相对比例。

生物多样性是生物圈的核心部分,也是人类赖以生存的重要物质基础。然而,人口的不断增长和人们经济活动的干扰,严重破坏了大自然的生物多样性并威胁着人类自身的生存和发展。因此生物多样性保护已成为国内外普遍关注和研究的热点,但人们主要重视生物多样性中某些重要成分的分析,而对自然界中复杂多样的微生物多样性研究不多,尤其在微生物多样性的研究方法上还探索不多。本文应用物种丰富度、物种多样性指数、均匀度指数和生态优势度等指标初步分析了成都市郊区土壤芽孢杆菌的物种多样性。总体来看,该区域芽孢杆菌物种较丰富,绝大多数样点能分离到2个种以上,少数采样点可达4个种以上,但多数采样点的物种多样性指数不高,主要与同一样点中各种芽孢杆菌的数量有关。根据均匀度指数和生态优势度分析,单个样点物种间数量差异大,存在明显的优势种。若要了解该区域芽孢杆菌的分布规律以及与其他土壤因子间的关系,还需更全面地设计采样方案和分析更多的样点及其相关方面。

参考文献:

- [1] 张华勇,李振高. 土壤芽孢杆菌及其资源的持续利用[J]. 土壤,2001,(2):92-96
- [2] 张华勇,李振高,王俊华,等. 红壤生态系统下芽孢杆菌的物种多样性[J]. 土壤,2003,(1):45-47
- [3] 石春芝,陶天申,岳莹玉. 神农架自然保护区九大湖芽孢杆菌资源调查[J]. 氨基酸和生物资源,2001,23(1):1-4
- [4] 王学聘,戴莲韵,杨光滢,等. 我国西北干旱地区森林土壤中苏云金芽孢杆菌生态分布[J]. 林业科学研究,1999,12(5):467-473
- [5] 戴莲韵,王学聘,杨光滢,等. 我国森林土壤中苏云金芽孢杆菌生态分布的研究[J]. 微生物学报,1994,34(6):449-456
- [6] 戴莲韵,王学聘,杨光滢,等. 中国八个自然保护区森林土壤中苏云金芽孢杆菌的分布[J]. 林业科学,1994,30(2):117-123
- [7] 戴莲韵,王学聘,杨光滢,等. 我国四个自然保护区森林土壤中苏云金芽孢杆菌的分布[J]. 林业科学研究,1993,6(6):621-626
- [8] 中国科学院南京土壤研究所. 土壤微生物研究方法[M]. 北京:科学出版社,1985
- [9] 东秀珠,蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京:科学出版社,2001:43-65
- [10] 陈 梦. 对生态系统及生物多样性等理论问题的探讨[J]. 南京林业大学学报(自然科学版),2003,27(5):30-34
- [11] 张 英,郭良栋,刘润进. 都江堰地区丛枝菌根真菌多样性与生态研究[J]. 植物生态学报,2003,27(4):537-544
- [12] 高雄飞,龙民生. 昆虫群落生态学[M]. 北京:中国农业出版社,1996:77-103

(上接第154页)

- [12] Mutero A, Pralavorio M, Bride J M, et al. Resistance-associated point mutations in insecticide-insensitive acetylcholinesterase[J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1994, 91: 5 922-5 926
- [13] Malcolm C A, Bourguet D, Ascolillo A, et al. A sexed-linked Ace gene, not linked to insensitive acetylcholinesterase-mediated insecticide resistance in *Culex pipiens* [J]. Insect Mol. Biol., 1998, (7): 1-14
- [14] Weill M, Fort P, Berthomieu A, et al. A novel acetylcholinesterase gene in mosquitoes codes for the insecticide target and is nonhomologous to the ace gene in *Drosophila* [J]. Proc. Royal. Soc. London B, 2002, 269: 2 007-2 016
- [15] Weill M, Malcolm C, Chandres F, et al. The unique mutation in ace-1 giving high insecticide resistance in easily detectable in mosquito vectors[J]. Insect Mol. Biol., 2004, 13(1): 1-7
- [16] Nabeshima T, Kozaki T, Tomita T, et al. An amino acid substitution on the second acetylcholinesterase in the pirimicarb-resistant strains of the peach potato aphid, *Myzus persicae* [J]. Biochem. Biophys. Res. Commun., 2003, 307: 15-22