



磷化氢的毒理及害虫对磷化氢的 抗性机制研究进展

王争艳*, 张 闪, 刘之源, 常珍珍

(河南工业大学粮食和物资储备学院, 郑州 450001)

摘要: 近 60 年来,熏蒸剂磷化氢被广泛用于储藏物害虫的防治。但是,长期、不合理地使用磷化氢,导致储藏物害虫抗药性的广泛产生。了解磷化氢的毒理机制可以为磷化氢抗性机制研究提供思路。早期的研究发现,磷化氢通过干扰神经传导、抑制能量代谢和破坏氧化还原系统,引起害虫死亡;但近年的研究表明,磷化氢致死害虫的主要机制是抑制能量生成和通过干扰氧化还原系统来增加氧化损伤。早期的研究发现,害虫对磷化氢的抗性机制主要包括主动排斥磷化氢、保护性昏迷和增强解毒酶活性。近年来,随着基因组学、蛋白组学和代谢组学的应用,相继出现一些新的磷化氢抗性机制,如穿透抗性、磷化氢作用靶标敏感性降低、能量代谢模式调整。越来越多的研究表明,靶标二氢硫辛酰胺脱氢酶突变以及抗氧化酶和解毒酶活性增强是主要的抗性机制,而能量代谢模式调整可能是抗性形成初期抵抗磷化氢不良影响的重要机制。采用基因渐渗的方法研究害虫磷化氢抗性突变的适合度代价可以更精准地预测抗性突变的进化方向。研究害虫的磷化氢抗性机制和抗性突变的进化潜力不仅有助于理解害虫抗药性的形成和生物的进化,同时对害虫的磷化氢抗性监测和治理有重要的意义。

关键词: 磷化氢; 抗药性; 二氢硫辛酰胺脱氢酶; 氧化还原; 能量代谢

中图分类号: Q965.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 0454-6296(2024)03-0422-09

Research progress in phosphine toxicology and resistance mechanisms in insect pests

WANG Zheng-Yan*, ZHANG Shan, LIU Zhi-Yuan, CHANG Zhen-Zhen (School of Food and Strategic Reserves, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: The fumigant phosphine has been widely used in protecting stored products against insect pests for over 60 years. However, the long-term and improper application of phosphine has led to extensive phosphine resistance among stored product pests. Knowledge of the mechanisms of phosphine toxicology can provide ideas for the study of the mechanisms of phosphine resistance. Although it has been accepted that phosphine causes death of insect pests by disruption of the nerve conduction, suppression of energy metabolism, and destruction of the redox system, recent studies have revealed that the main lethal mechanisms involve inhibiting the energy production, and disturbing redox system to increase oxidative damage. Earlier studies demonstrated that the mechanisms of phosphine resistance mainly included active exclusion of phosphine, protective narcosis, and upregulation of detoxification enzyme activities. In recent years, with the application of genomics, proteomics, and metabolomics, some novel resistance mechanisms, such as penetration resistance, decreased sensitivity of the target of phosphine, and

reprogrammed energy metabolism, have been proposed. Increasing researches supported that strong phosphine resistance should be mainly attributed to mutations of the target dihydrolipoamide dehydrogenase and upregulation of antioxidase and detoxification enzyme activities, while reprogrammed energy metabolism is a possible strategy adopted to counteract the negative influence of phosphine during the early stage of resistance formation. Application of gene introgression in the study of fitness costs associated with phosphine resistance mutations facilitates precisely predicting the evolution direction of resistance mutations. Knowledge of the mechanisms of phosphine resistance and the evolutionary potential of resistance mutations not only helps understand pesticide resistance development and biological evolution, but also provides insights into the monitoring and management of phosphine resistance.

Key words: Phosphine; pesticide resistance; dihydrolipoamide dehydrogenase; redox; energy metabolism

由于具有防治成本低、使用方便、无农药残留等特点,磷化氢作为熏蒸剂被广泛用于储藏物害虫的防治。但是,长期、单一、不合理地应用磷化氢导致储藏物害虫的磷化氢抗性在全球迅速发展。重要的储藏物害虫,如印度谷螟 *Plodia interpunctella*、谷斑皮蠹 *Trogoderma granarium*、谷蠹 *Rhyzopertha dominica*、谷象 *Sitophilus granarius*、米象 *Sitophilus oryzae*、玉米象 *Sitophilus zeamais*、烟草甲 *Lasioderma serricorne*、赤拟谷盗 *Tribolium castaneum*、锈赤扁谷盗 *Cryptolestes ferrugineus*、锯谷盗 *Oryzaephilus surinamensis*、嗜卷书虱 *Liposcelis bostrychophila* 和嗜虫书虱 *Liposcelis entomophila* 均对磷化氢产生了显著的抗性(Nayak *et al.*, 2020)。磷化氢抗性治理已成为储藏物害虫防治的重要难题。

揭示害虫对磷化氢的抗性机制可为筛选抗性快速检测基因和杀虫剂作用靶标提供依据,以及为开发新型害虫防治技术和制定磷化氢抗性治理策略提供思路。不同于触杀剂和胃毒剂,磷化氢的作用机理较为独特,主要通过呼吸系统进入虫体,作用于细胞的氧化还原等生理过程。尽管早些年已有关于磷化氢的毒理和抗性机制的综述(Price, 1984; Chaudhry, 1997; 吴芳和严晓平, 2011),但随着基因组学、蛋白组学和代谢组学的应用,新的磷化氢抗性机制相继出现。因此,本文结合最新的研究结果,归纳分析磷化氢的毒理机制、抗性机制及其进化潜力,以为磷化氢抗性治理提供思路。

1 磷化氢的致死机制

磷化氢进入虫体后主要累积在胞液中(林忠莲和张立力, 2000),可作为配位体与含金属离子的酶辅基反应,生成配位化合物,降低酶的催化活性,对

害虫的生理代谢产生广泛的负面影响(曹阳等, 2002)。目前,磷化氢致死害虫的机制有3种(Nath *et al.*, 2011):(1)抑制乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)活性,干扰害虫神经传导;(2)抑制能量代谢,使害虫的能量生成受阻;(3)干扰害虫的氧化还原系统,使虫体内积累大量的活性氧(reactive oxygen species, ROS),给细胞造成严重的氧化损伤。

1.1 抑制乙酰胆碱酯酶

在昆虫神经系统中,神经递质乙酰胆碱的积累会产生急性毒性,而AChE可以降解乙酰胆碱,避免神经持续兴奋,保证昆虫生理活动的正常进行。磷化氢处理时,粉斑螟 *Ephestia cautella* 的AChE活性降低,并且AChE活性高的虫态(成虫和幼虫)对磷化氢更加敏感。在体外,使用高剂量($67 \sim 333 \text{ mg/m}^3$)的磷化氢能抑制AChE的活性(Al-Hakkak *et al.*, 1989)。然而,在防治实践中,磷化氢的使用剂量($0.1 \sim 0.5 \text{ mg/m}^3$)不足以使害虫迅速死亡。此外,使用亚致死剂量磷化氢处理时,很多害虫的AChE活性没有明显变化(Kim *et al.*, 2019a, 2021)。进一步的研究表明,磷化氢处理时,在初期的害虫麻醉或击倒阶段,磷化氢能抑制AChE的活性,但随散气时间的延长,害虫开始复苏,其体内AChE的活性逐步恢复,甚至超出正常水平(林忠莲和张立力, 2001)。据此推测,高剂量磷化氢会抑制AChE的活性,而害虫可能通过减少活动来抵消这种负面影响(曹阳等, 2002)。

需要注意的是,乙酰胆碱除了能与乙酰胆碱受体结合,控制配体门控通道外,还能作用于G蛋白耦联乙酰胆碱信号通路,如毒蕈碱信号通路。秀丽隐杆线虫 *Caenorhabditis elegans* 滞育时的代谢速率较低,而毒蕈碱信号通路能促进滞育解除。与解除

滞育类似,磷化氢通过抑制 AChE 活性来提高乙酰胆碱水平,增强毒蕈碱信号通路,导致害虫代谢需求增加,从而提高其对磷化氢的敏感性 (Nath *et al.*, 2011)。因此,相对于神经传导的紊乱,磷化氢抑制乙酰胆碱酯酶所引发的代谢增强具有更显著的致死效应。

目前尚未明确磷化氢抑制 AChE 的分子机制。有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂中带正电荷的基团与 AChE 带负电荷的结合位点产生静电吸引,使其靠近并与 AChE 活性位点的丝氨酸残基形成共价键 (Fukuto, 1990),而根据同性静电互斥的原则,推测磷化氢中带负电的磷原子不能与 AChE 的结合位点结合。但在生物体内,磷化氢迅速被氧化为不稳定的中间产物正磷酸 (H_3PO)。 H_3PO 中的氧原子带部分负电荷,磷原子带部分正电荷 (Nath *et al.*, 2011),这可能会提高其与 AChE 的结合能力,从而抑制乙酰胆碱与 AChE 的结合,降低 AChE 对乙酰胆碱的降解活性。但是,还需进一步的实验才能证实该假说。

1.2 抑制能量代谢

1.2.1 抑制呼吸链酶系: 细胞色素 c 氧化酶 (cytochrome c oxidase, COX) 是线粒体电子传递链 (electron transport chain, ETC) 中的复合体 IV, 是血红素蛋白。先前很多的研究认为,磷化氢的主要杀虫机制是其易与血红素中的铁离子形成配位键,抑制 COX 的活性,降低 ETC 的电子传递能力,从而抑制三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 的生成,使害虫因供能不足而死亡 (Valmas *et al.*, 2008)。磷化氢处理剂量越高,害虫的 COX 活性越低,但这并不足以说明 COX 就是磷化氢的作用靶标 (Kim *et al.*, 2018)。体外生化实验也证实,磷化氢处理时,其他血红素蛋白,如血红蛋白、肌红蛋白缓慢脱氧,光谱特性发生变化,而 COX 的光谱特性没有变化,这说明 COX 和磷化氢分子间没有发生直接作用 (Kashi and Chefurka, 1976)。

很多研究也进一步证实,磷化氢对 COX 活性的抑制作用并不是磷化氢的主要致死机制 (Farahani *et al.*, 2016)。尽管磷化氢在体外对 COX 的抑制作用较为明显,但是在害虫、螨、鼠和人等生物体内,磷化氢对 COX 的抑制作用较弱 (Zuryn *et al.*, 2008)。例如,磷化氢处理时,谷蠹敏感品系和抗性品系体内的 COX 活性均未发生明显变化 (Price and Walter, 1987)。然而,蛋白组分析表明,磷化氢处理时,害虫 COX 的表达量显著下调,这可能是造成 COX 活

性降低的主要原因 (Kim *et al.*, 2018)。

1.2.2 抑制二氢硫辛酰胺脱氢酶 (dihydrolipoamide dehydrogenase, DLD): DLD 是真核生物有氧呼吸和能量代谢中一种重要的同源二聚体酶,参与构成丙酮酸脱氢酶、 α -酮戊二酸脱氢酶、支链 α -酮酸脱氢酶和甘氨酸裂解酶等线粒体关键酶复合体,而这些酶复合体参与丙酮酸脱氢、三羧酸循环和支链氨基酸的降解。DLD 包含一个二硫键催化中心,而磷化氢可与 DLD 的二硫键催化中心结合,抑制 DLD 参与构成的酶复合体的催化活性 (Schlipalius *et al.*, 2012)。蛋白组分析表明,与空白对照相比,亚致死剂量磷化氢处理的桔臀纹粉蚧 *Planococcus citri* 的 DLD 表达量下调,这可能是 DLD 活性降低的另一个原因,这将进一步阻碍能量生成 (Kim *et al.*, 2021)。

1.3 干扰氧化还原系统

磷化氢的主要杀虫机制可能是干扰细胞的氧化还原系统,促进生成大量的 ROS,如超氧阴离子 (O_2^-)、羟基自由基 ($\cdot\text{OH}$) 和过氧化氢 (H_2O_2),增加氧化压力和脂质过氧化,导致细胞因氧化损伤而死亡 (Zuryn *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2015)。磷化氢可将铁蛋白中的 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} ,而 Fe^{2+} 能与超氧化物和 H_2O_2 反应生成羟基自由基 (Cha'on *et al.*, 2007)。磷化氢还可以直接和 H_2O_2 反应产生羟基自由基 (Quistad *et al.*, 2000)。此外,ETC 是产生 ROS 的主要途径,NADH 脱氢酶黄素蛋白 1 (复合体 I) 和 COX 的催化产物中均含有 ROS。通常,ETC 产生的 ROS 被超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 转化为 H_2O_2 ,然后被过氧化氢酶 (catalase, CAT) 或过氧化物酶 (peroxidase, POD) 转化为水。低浓度磷化氢处理时,桃蚜 *Myzus persicae* 复合体 I 表达量显著上调,产生更多的 ROS,增加虫体的氧化损伤 (Kim *et al.*, 2018)。

CAT 的 4 个亚基通过血红素辅基聚合形成的四聚体具有催化活性。磷化氢与血红素辅基中的铁离子结合后能抑制 CAT 的活性 (Chaudhry and Price, 1990)。在谷蠹、锯谷盗、锈赤扁谷盗和秀丽隐杆线虫中,磷化氢抑制 CAT 的活性,导致害虫体内 H_2O_2 的大量积累,增加害虫体内的氧化压力 (Price and Dance, 1983; Zuryn *et al.*, 2008)。然而,磷化氢只有在害虫体内才表现出对 CAT 活性的抑制作用,在体外未表现出抑制作用。此外,SOD 也具有血红素辅基,但磷化氢处理能提高 SOD 的活性 (Bolter and Chefurka, 1990; Chaudhry and Price, 1992)。这表明,磷化氢与铁离子的结合不是其抑制具有血红素

辅基的抗氧化酶活性的主要机制,应该还涉及其他调控机制。

磷化氢除了通过与抗氧化酶的活性位点结合抑制其活性外,还可以通过抑制抗氧化酶基因的表达来抑制酶活性。在黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 中,磷化氢并不直接抑制 CAT 基因的启动子,而是降低了正向调节因子 DREF(DNA 复制相关因子)的水平,在转录水平上抑制 CAT 基因的表达(Liu *et al.*, 2017)。

2 害虫对磷化氢的抗性机制

害虫对磷化氢的抗性机制主要有 6 种(Schlupianus *et al.*, 2012; Kim *et al.*, 2019b):(1)主动排斥(active exclusion)磷化氢和保护性昏迷;(2)穿透抗性(penetration resistance);(3)增强自由基清除能力;(4)降低磷化氢作用靶标的敏感性;(5)增强解毒能力;(6)调整能量代谢模式。

2.1 主动排斥磷化氢和保护性昏迷

害虫的磷化氢抗性与其磷化氢摄入量降低有关,该过程被称为主动排斥。磷化氢可以通过体壁进入虫体(Bond and Monro, 1967)。研究发现,抗性谷蠹活虫对磷化氢的吸附量低于死虫,说明存在抑制磷化氢进入虫体的机制。此外,二氧化碳可以延长害虫气门开放时间,但二氧化碳存在时抗性谷蠹的磷化氢摄入量进一步降低,这说明气门结构不能阻止磷化氢进入虫体(Price, 1984)。因此,应该存在其他主动排斥磷化氢进入虫体的机制。

与敏感品系相比,赤拟谷盗、谷蠹、锯谷盗抗性品系的磷化氢摄入量较低,并且磷化氢抗性水平与害虫的呼吸代谢呈负相关。能影响有氧代谢的因素均与磷化氢的毒力有关:在无氧条件下,磷化氢无毒;降低温度,害虫代谢速率下降,对磷化氢耐受性增强(Pimentel *et al.*, 2007)。在秀丽隐杆线虫中,磷化氢抗性突变体的氧气消耗量下降 70%,线粒体基因组拷贝数高于野生型的(代谢能力降低后常见的生理响应)。RNAi 抑制线虫的 ETC 基因后,其生长速率、ATP 产量和呼吸速率下降,对磷化氢的抗性增加 10 倍(Zuryn *et al.*, 2008)。磷化氢处理时,赤拟谷盗抗性品系和敏感品系的呼吸速率和活动能力均有所降低,敏感品系的下降程度高于抗性品系,但敏感品系的呼吸速率仍高于抗性品系的(Malekpour *et al.*, 2020)。类似地,用亚致死剂量磷化氢处理时,谷蠹抗性品系的爬行能力低于敏感品系的

(Pimentel *et al.*, 2012)。这说明,磷化氢处理时,害虫通过降低呼吸速率、呼吸代谢、ATP 生成量和活动能力来主动排斥磷化氢的摄入,从而提高其对磷化氢的耐受性。

使用高剂量磷化氢处理时,害虫将活动能力降低至最大程度,出现昏迷,以降低磷化氢的摄入量,而除去磷化氢时,大多数成虫恢复正常活动,这种行为被称为保护性昏迷(曹阳等, 2002)。为降低磷化氢的摄入量,抗性品系昏迷所需的磷化氢浓度阈值应该低于敏感品系,但实际上相反,而去除磷化氢后,敏感品系的死亡率远高于抗性品系的(Athanassiou *et al.*, 2019; Malekpour *et al.*, 2020)。这可能是由抗性个体呼吸速率更低,吸入磷化氢量更少造成的(Pimentel *et al.*, 2007),但更可能是因为抗性个体进化出更复杂的磷化氢抗性机制,后文所提及的其他机制可能起着更重要的作用。

2.2 穿透抗性

穿透抗性是指害虫通过加强表皮结构组分如表皮脂质或结构蛋白的合成和沉积,增加表皮厚度,阻碍杀虫剂的穿透。穿透抗性的分子机制主要涉及结构蛋白、催化酶(如细胞色素 P450 酶系的 CYP4G16 和漆酶 2)和 ABC 转运体(ATP-binding cassette transporter)等的表达量上调(Balabanidou *et al.*, 2018)。RNA 测序和荧光定量 PCR 检测结果显示,锈赤扁谷盗抗性品系表皮蛋白基因表达量上调(Chen *et al.*, 2021)。此外,固相微萃取-气相色谱-质谱联用检测赤拟谷盗和谷蠹表皮烃的组成发现,抗性品系表皮烃的含量显著高于敏感品系的(Alnajim *et al.*, 2020)。这些表皮结构的变化可能会阻碍磷化氢通过表皮进入虫体,提高害虫对磷化氢的耐受力。

细胞和其他组织结构对磷化氢的穿透性降低也可能引起害虫的磷化氢抗性。气管对磷化氢穿透性的降低,会减少磷化氢的摄入量,并且会增加磷化氢被微气管液柱中活性物质降解的机率(Chaudhry and Price, 1992)。磷化氢能抑制鼠肝脏线粒体、害虫线粒体和线虫的呼吸作用。当线粒体呼吸被化学解耦联剂(chemical uncoupler)或 ATP 合成前体激活时,抑制作用更加明显。相反,除非利用超声波破坏线粒体内膜,否则在未被激活的状态下,很难观察到磷化氢对线粒体呼吸的抑制作用。进一步的研究发现,线粒体内膜内外侧形成的跨膜质子梯度决定包括磷化氢在内的各种物质的跨膜运输。正常情况下,跨膜质子梯度不足以引发磷化氢的穿膜,从而阻

止磷化氢进入膜内(Nath *et al.*, 2011)。

尽管害虫可能通过主动排斥或穿透抗性减少磷化氢的摄入量而产生抗性,但是,即使敏感品系和抗性品系摄入等量的磷化氢,产生的 ROS 对敏感品系的伤害更为明显,因此穿透抗性带来的磷化氢摄入量降低不是害虫对磷化氢产生抗性的主要机制(Chaudhry, 1997)。

2.3 增强自由基清除能力

害虫可以通过提高其抗氧化酶的活性来降低 ROS 对细胞的伤害。ROS 是一种细胞毒性物质。磷化氢可阻断害虫 ETC,造成 ROS 的积累,从而对细胞产生毒性(Schlupalius *et al.*, 2018),而抗氧化酶,如 CAT、POD 和谷胱甘肽-S-转移酶(glutathione-S-transferases, GSTs)可以及时地清除 ROS,降低其毒性。磷化氢处理时,谷蠹抗性品系的 CAT 活性高于敏感品系(Price and Dance, 1983)。类似地,随着谷斑皮蠹磷化氢抗性水平的提高,其 POD 活性增加,将 ROS 维持在较低水平(Yadav *et al.*, 2020)。GSTs 通过调节脱氧抗坏血酸的还原和再生来清除 ROS。磷化氢处理时,米象体内 5 种 GSTs 表达量均上调(Hu *et al.*, 2018)。

2.4 降低磷化氢作用靶标的敏感性

目前,很多研究已证实,储藏物害虫的磷化氢抗性主要是由两个基因控制,分别为 *rph1* 和 *rph2*,其遗传模式均为常染色体隐性遗传(Nguyen *et al.*, 2015)。*rph2* 编码的 DLD 是磷化氢的作用靶标。DLD 催化产物中的 ROS 能破坏质膜。*rph1* 编码的细胞色素 b5 脂肪酸脱氢酶(cytochrome b5 fatty acid desaturase, Cyt-b5-r)催化生成的多不饱和脂肪酸是生物膜的重要组分,而多不饱和脂肪酸易受到 ROS 的攻击,发生过氧化,产生有毒化合物,使生物膜发生损坏(Schlupalius *et al.*, 2018)。

rph1 和 *rph2* 基因抗性突变后编码的酶的活性改变诱导了磷化氢抗性。在磷化氢的筛选压力下,单个抗性基因突变为纯合子时就能诱导抗性。DLD 抗性突变后,磷化氢与其结合能力降低,且其催化生成 ROS 的量减少。磷化氢处理时,秀丽隐杆线虫敏感品系和抗性品系体内乳酸、支链氨基酸、谷氨酸和甘氨酸含量存在显著差异,而这些代谢物在代谢通路上定位到 α -酮戊二酸脱氢酶、甘氨酸裂解酶和丙酮酸脱氢酶等酶,这说明抗性突变的 DLD 参与的生物氧化与磷化氢抗性相关(Schlupalius *et al.*, 2012)。另外, *rph1* 抗性突变编码的 Cyt-b5-r 的酶活性降低,使生物膜中多不饱和脂肪酸含量降低,从而降低

ROS 对生物膜的破坏作用(Schlupalius *et al.*, 2018)。因此,当 *rph1* 和 *rph2* 两个抗性基因同时突变为纯合子时,会协同产生更强的磷化氢抗性(Nayak *et al.*, 2020)。

2.5 增强解毒能力

由 CYP 编码的细胞色素 P450 单加氧酶系(cytochrome P450 monooxygenases, P450s)是昆虫体内一类重要的解毒酶。磷化氢熏蒸时,赤拟谷盗高抗品系的 *CYP346B1*, *CYP346B2* 和 *CYP346B3* 基因表达量显著上调。此外,使用胡椒基丁醚(增效醚)抑制 P450s,赤拟谷盗对磷化氢的敏感性增加(Wang *et al.*, 2020)。进一步的研究发现,磷化氢抗性与 P450s 的活性呈正相关。分析不同地理种群赤拟谷盗的 P450s 活性发现,抗性品系的 P450s 活性高于敏感品系,其中抗性品系 P450 基因 *CYP345A1* 和 *CYP345A2* 的表达量显著高于敏感品系。RNAi 抑制这两个基因表达后,赤拟谷盗对磷化氢的敏感性提高(Huang *et al.*, 2019)。类似地,与敏感品系相比,谷蠹抗性品系 *CYP4C1-like* 基因的表达量提高了 7 倍(Yang *et al.*, 2018)。

尽管 P450s 可以将多种杀虫剂氧化为无毒或低毒物质(杨帆, 2008),但是目前并未揭示 P450s 能提高害虫磷化氢抗性的分子机制。由于磷化氢在生物体内会被氧化成磷酸盐(PO_4^{3-})、次磷酸盐(H_2PO_2^-)、亚磷酸盐(HPO_3^{2-})等无毒或低毒的产物(Nath *et al.*, 2011)。所以有人推测 P450s 可能参与催化磷化氢的氧化转化(间接解毒)(Wang *et al.*, 2020),但是目前并无研究证实 P450s 参与磷化氢生物体内的转化过程。

2.6 调整能量代谢模式

由于磷化氢会降低害虫的呼吸速率,导致 ATP 生成不足,而抗性害虫可以通过上调 ETC 酶系的表达量,来克服磷化氢的抑制作用,继续使用 ETC 产能。米象磷化氢抗性品系的 COX 活性高于敏感品系,并且 COX 的活性与磷化氢抗性程度呈正相关(Kim *et al.*, 2019b)。进一步的研究发现,COX 的 I 亚基在米象抗性品系中的表达量是敏感品系中的 15 倍(Koo *et al.*, 2021)。在线虫中也发现,磷化氢抗性品系的呼吸作用和代谢水平降低,而线粒体基因组 DNA 拷贝数增加,用来提高氧化磷酸化水平,以满足细胞的能量需求(Zuryn *et al.*, 2008)。

此外,米象蛋白组分析和线粒体 DNA 测序结果显示,磷化氢中抗品系和高抗品系中参与糖酵解和三羧酸循环的代谢酶(二磷酸果糖醛缩酶)基因的

表达量显著下调,参与蛋白质折叠的热休克蛋白 90 基因(*hsp90*)和参与碳水化合物代谢的唾液淀粉酶基因(*amy1*)表达量也不同程度地下调。这表明磷化氢中抗品系和高抗品系可以通过抑制核心代谢和调节呼吸强度来降低能量消耗,使能量生成代谢负担最小化,从而保证关键通路如合成代谢、分解代谢和氧化还原平衡的功能,以此促进磷化氢抗性的形成(Kim *et al.*, 2019b)。

磷化氢高抗品系还可以通过调用其他产量通路,避免使用 ETC 产能,从而降低磷化氢带来的负面影响,提高对磷化氢的抗性。高抗米象编码复合体 I 的线粒体基因和编码 DLD 的核基因的多个非同义突变的积累,可能将代谢通路调整为有氧糖酵解(在有氧条件下,主要利用葡萄糖发酵而不是氧化磷酸化来产生 ATP)和线粒体的乳糖生成,主要通过底物水平磷酸化产能,提高细胞对磷化氢的耐受性(Kim *et al.*, 2019b)。与敏感品系相比,谷蠹磷化氢抗性品系中 DLD、甘油醛-3-磷酸脱氢酶、磷酸丙糖异构酶等与糖酵解和柠檬酸循环相关酶的表达量下调,而烯醇化酶(糖酵解过程中的关键酶)表达量上调。这表明磷化氢会抑制糖酵解和柠檬酸循环,但是烯醇化酶表达量上调,增加糖酵解产能,可能会补偿磷化氢引起的产能不足(Park *et al.*, 2008)。类似地,在米象抗性品系中,糖酵解中的磷酸丙糖异构酶的表达量上调。此外,蛋白组分析表明,在米象抗性品系中, δ -1-吡咯-5-羧酸脱氢酶(一种核编码线粒体酶,催化脯氨酸降解第 2 步)和柠檬酸合成酶 2(催化三羧酸循环的第 1 步)的表达量上调,这样可以直接利用脯氨酸产能(Koo *et al.*, 2021)。

总体来说,害虫某些能量代谢模式的调整不需要稳定的基因突变,只是通过上调相应的氧化代谢酶的活性就能克服磷化氢对能量生成的抑制作用。因此,能量代谢调整在磷化氢抗性形成初期起着重要的作用,可以降低磷化氢的毒力,提高种群存活率。此外,在长期的磷化氢选择压力下,害虫还可以通过进一步的线粒体突变,形成稳定的能量代谢模式转变,促进抗性机制的形成。

3 害虫磷化氢抗性突变的进化

昆虫适合度(fitness)指昆虫以遗传物质为基础的环境适应、生存和繁殖的相对能力。适合度代价(fitness cost)或抗性代价(resistance cost)是指抗性

基因型适合度的不利性。抗性代价限制了抗性基因型的普遍发生,抗性代价小的抗性突变更容易得以进化(王争艳等, 2021)。因此,研究害虫磷化氢抗性突变的抗性代价能预测抗性突变的进化方向。目前关于磷化氢对抗性适合度影响的研究集中在 *rph1* 和 *rph2* 的抗性突变。

很多研究采用种群笼法(population cage approach)研究害虫的磷化氢抗性代价。在种群笼法中,以敏感品系和抗性品系杂交的种群为监测对象,在没有磷化氢选择压力下培养多代,持续监测种群抗性表型或抗性等位基因频率的变化(Jagadeesan *et al.*, 2012)。抗性表型或等位基因衰减得越快,抗性代价越大(王争艳等, 2021)。基于种群笼法的研究表明,谷蠹的磷化氢抗性基因(*rph2*)频率在 20 个世代中保持不变,说明不存在磷化氢抗性代价(Schlipalius *et al.*, 2008)。但是种群笼法并不能完全控制遗传背景,不足以证实抗性代价是由抗性突变造成的。为排除遗传背景的影响,可采用基因渐渗(gene introgression)的方法研究抗性代价。基因渐渗是指两个品系的杂交后代与亲本反复回交,把某一亲本的性状带至另一亲本中的方法。采用基因渐渗将 *rph1* 和 *rph2* 导入敏感品系中,未引起赤拟谷盗和锈赤扁谷盗的发育历期和繁殖力参数变劣(Daglish *et al.*, 2020; Singarayan *et al.*, 2021),说明不存在抗性代价。这也就解释了为什么 *rph1* 和 *rph2* 基因抗性突变能在全球广泛发生(Nayak *et al.*, 2020)。

4 小结与展望

综上所述,磷化氢致死害虫的机制包括抑制害虫的 AChE,干扰神经传导;抑制能量的生成;干扰氧化还原系统,增加氧化损伤。害虫对磷化氢抗性的机制包括主动排斥磷化氢和保护性昏迷,穿透抗性,增强自由基清除能力,降低磷化氢作用靶标的敏感性,增强解毒能力和调整能量代谢模式。其中, DLD 突变、自由基清除能力和解毒能力增强是主要的抗性机制,能量代谢模式的调整可能是抗性形成初期抵抗磷化氢不良影响的重要机制。但是, P450s 等解毒酶对磷化氢的解毒机制,磷化氢处理时害虫能量代谢模式转换的分子及其遗传机制仍需要进一步的研究。研究害虫的磷化氢抗性机制和抗性突变的进化潜力不仅有助于理解害虫抗药性的形成和生物的进化,同时对于害虫的磷化氢抗性监测和治理

有重要的意义。

在磷化氢抗性突变基因筛选的基础上,通过检测等位基因可以迅速评价害虫的抗性水平,为制定抗性治理策略提供依据。目前广泛使用 FAO (1975) 推荐的方法和击倒抗性方法(单常尧等, 2020)检测磷化氢抗性具有很多的局限性,如费时,只能检测活动虫态和分析种群的抗性水平,而通过等位基因检测可以在数小时内鉴别个体的抗性水平,节省人力物力,还可以检测各个虫态甚至已死害虫的抗性,实现对不同时空收集的个体进行检测。例如,DLD 的 P45S 突变是赤拟谷盗磷化氢高抗基因型中最普遍的突变,其等位基因频率与抗性系数存在较强的线性关系,因此可以根据该基因的突变频率判断赤拟谷盗种群的抗性水平(Wang *et al.*, 2022)。类似地,米象磷化氢高抗品系的 DLD 酶中存在 P49S 突变,也可以利用该突变来鉴别米象的抗性水平(Chen *et al.*, 2015)。

通过鉴定抗性基因,可以筛选新的杀虫剂作用靶标,为磷化氢抗性治理提供新的思路。RNAi 技术兼顾特异性和广谱性,具有高效性、高生物安全性、易推广的特点,在储藏物害虫治理方面具有很大的潜力,如 RNAi 已被成功用于烟草甲的防治(Koo *et al.*, 2020)。与磷化氢抗性相关的酶,如 DLD, CAT, AChE 和 P450s 可以成为 RNAi 的作用靶标,目前已被成功用于控制斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* (Zhao *et al.*, 2013)、麦长管蚜 *Sitobion avenae*、桃蚜(王晖等, 2012)、棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Kumar *et al.*, 2009)和秀丽隐杆线虫(Butler *et al.*, 2013)的种群发育。此外,还可以选择特定作用于这些酶的杀虫剂与磷化氢联用进行抗性治理。例如,羰基硫(carbonyl sulfide, COS)的代谢物硫化氢作用于害虫的细胞色素氧化酶,亚砷酸盐会特异性作用于具有磷化氢抗性的 DLD 突变体 *dld-1*,两者与磷化氢联用时具有显著的增效作用(Alzahrani and Ebert, 2019; Lee *et al.*, 2020)。

参考文献 (References)

Al-Hakkak ZS, Al-Azzawi MJ, Al-Adhamy BW, Khalil SA, 1989. Inhibitory action of phosphine on acetylcholinesterase of *Ephestia cautella* (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Stored Prod. Res.*, 25(3): 171–174.

Alnajim I, Agarwal M, Liu T, Li BB, Du X, Ren YL, 2020. Preliminary study on the differences in hydrocarbons between phosphine-susceptible and -resistant strains of *Rhyzopertha dominica* (Fabricius) and *Tribolium castaneum* (Herbst) using direct

immersion solid-phase microextraction coupled with GC-MS. *Molecules*, 25(7): 1565.

Alzahrani SM, Ebert PR, 2019. Oxygen and arsenite synergize phosphine toxicity by distinct mechanisms. *Toxicol. Sci.*, 167(2): 419–425.

Athanassiou CG, Kavallieratos NG, Brabec DL, Oppert B, Guedes RNC, Campbell JF, 2019. From immobilization to recovery: Towards the development of a rapid diagnostic indicator for phosphine resistance. *J. Stored Prod. Res.*, 80: 28–33.

Balabanidou V, Grigoraki L, Vontas J, 2018. Insect cuticle: A critical determinant of insecticide resistance. *Curr. Opin. Insect Sci.*, 27: 68–74.

Bolter CJ, Chefurka W, 1990. The effect of phosphine treatment on superoxide dismutase, catalase, and peroxidase in the granary weevil, *Sitophilus granarius*. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 36(1): 52–60.

Bond EJ, Monro HAU, 1967. The role of oxygen in the toxicity of fumigants to insects. *J. Stored Prod. Res.*, 3(4): 295–310.

Butler JA, Mishur RJ, Bhaskaran S, Rea SL, 2013. A metabolic signature for long life in the *Caenorhabditis elegans* Mit mutants. *Aging Cell*, 12(1): 130–138.

Cao Y, Song Y, Sun GY, Li GJ, 2002. Review of toxicology on phosphine. *J. Zhengzhou Inst. Technol.*, 23(2): 84–89. [曹阳, 宋翼, 孙冠英, 李桂杰, 2002. 磷化氢毒理学研究综述. 郑州工程学院学报, 23(2): 84–89]

Cha'on U, Valmas N, Collins PJ, Reilly PEB, Hammock BD, Ebert PR, 2007. Disruption of iron homeostasis increases phosphine toxicity in *Caenorhabditis elegans*. *Toxicol. Sci.*, 96(1): 194–201.

Chaudhry MQ, 1997. A review of the mechanisms involved in the action of phosphine as an insecticide and phosphine resistance in stored-product insects. *Pest Manag. Sci.*, 49(3): 213–228.

Chaudhry MQ, Price NR, 1990. A spectral study of the biochemical reactions of phosphine with various haemproteins. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 36(1): 14–21.

Chaudhry MQ, Price NR, 1992. Comparison of the oxidant damage induced by phosphine and the uptake and tracheal exchange of ³²P-radiolabelled phosphine in the susceptible and resistant strains of *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae). *Pestic. Biochem. Physiol.*, 42(2): 167–179.

Chen EH, Duan JY, Song W, Wang DX, Tang PA, 2021. RNA-seq analysis reveals mitochondrial and cuticular protein genes are associated with phosphine resistance in the rusty grain beetle (Coleoptera: Laemophloeidae). *J. Econ. Entomol.*, 114(1): 440–453.

Chen Z, Schlipalius D, Opit G, Subramanyam B, Phillips TW, 2015. Diagnostic molecular markers for phosphine resistance in U. S. populations of *Tribolium castaneum* and *Rhyzopertha dominica*. *PLoS ONE*, 10(3): e0121343.

Daglish GJ, Jagadeesan R, Nayak MK, McCulloch GA, Singarayan VT, Walter GH, 2020. The gene introgression approach and the potential cost of genes that confer strong phosphine resistance in red flour beetle (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Econ. Entomol.*, 113(3):

- 1547 – 1554.
- FAO, 1975. Recommended methods for the detection and measurement of resistance of agricultural pests to pesticides: Tentative method for adults of some major pest species of stored cereals with methyl bromide and phosphine – FAO Method No 16. *Plant Prot. Bull.*, 23: 12 – 25.
- Farahani MV, Soroosh D, Marashi SM, 2016. Thoughts on the current management of acute aluminum phosphide toxicity and proposals for therapy: An evidence-based review. *Indian J. Crit. Care Med.*, 20 (12): 724 – 730.
- Fukuto TR, 1990. Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides. *Environ. Health Perspect.*, 87: 245 – 254.
- Hu F, Ye K, Tu XF, Lu YJ, Thakur K, Jiang L, Wei ZJ, 2018. Identification and expression profiles of twenty-six glutathione S-transferase genes from rice weevil, *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). *Int. J. Biol. Macromol.*, 120: 1063 – 1071.
- Huang Y, Li FF, Liu MW, Wang YZ, Shen F, Tang PA, 2019. Susceptibility of *Tribolium castaneum* to phosphine in China and functions of cytochrome P450s in phosphine resistance. *J. Pest Sci.*, 92(3): 1239 – 1248.
- Jagadeesan R, Collins PJ, Daglish GJ, Ebert PR, Schlipalius DI, 2012. Phosphine resistance in the rust red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae): Inheritance, gene interactions and fitness costs. *PLoS ONE*, 7(2): e31582.
- Kashi KP, Chefurka W, 1976. The effect of phosphine on the absorption and circular dichroic spectra of cytochrome c and cytochrome oxidase. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 6(4): 350 – 362.
- Kim K, Lee YH, Kim G, Lee BH, Yang JO, Lee SE, 2019a. Ethyl formate and phosphine fumigations on the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* and their biochemical responses. *Appl. Biol. Chem.*, 62: 50.
- Kim K, Park JS, Yang JO, Lee SE, 2018. Proteomic evaluation of insecticidal action of phosphine on green peach aphids, *Myzus persicae*. *Appl. Sci.*, 8(10): 1764.
- Kim K, Park MG, Lee YH, Jeon HJ, Kwon TH, Kim C, Park J, Lee BH, Yang JO, Lee SE, 2021. Synergistic effects and toxic mechanism of phosphine with ethyl formate against citrus mealybug (*Planococcus citri*). *Appl. Sci.*, 11(21): 9877.
- Kim K, Yang JO, Sung JY, Lee JY, Park JS, Lee HS, Lee BH, Ren Y, Lee DW, Lee SE, 2019b. Minimization of energy transduction confers resistance to phosphine in the rice weevil, *Sitophilus oryzae*. *Sci. Rep.*, 9: 14605.
- Koo HN, Seok SJ, Kim HK, Kim GH, Yang JO, 2021. Comparative proteomics analysis of phosphine-resistant and phosphine-susceptible *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). *Appl. Sci.*, 11(9): 4163.
- Koo J, Chereddy SCRR, Palli SR, 2020. RNA interference-mediated control of cigarette beetle, *Lasioderma serricorne*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 104(4): e21680.
- Kumar M, Gupta GP, Rajam MV, 2009. Silencing of acetylcholinesterase gene of *Helicoverpa armigera* by siRNA affects larval growth and its life cycle. *J. Insect Physiol.*, 55(3): 273 – 278.
- Lee HK, Jeong G, Kim HK, Kim BS, Yang JO, Koo HN, Kim GH, 2020. Fumigation activity against phosphine-resistant *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) using carbonyl sulfide. *Insects*, 11(11): 750.
- Lin ZL, Zhang LL, 2000. The progress of biochemical studies on phosphine as a respiration poison to insects. *J. Zhengzhou Inst. Technol.*, 21(4): 27 – 30. [林忠莲, 张立力, 2000. 磷化氢作为昆虫呼吸毒剂的生化研究进展. 郑州工程学院学报, 21(4): 27 – 30]
- Lin ZL, Zhang LL, 2001. The effect of phosphine on acetylcholinesterase in adults of *Rhyzopertha dominica* (Fabricius) and *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) in vivo. *J. Zhengzhou Inst. Technol.*, 22(4): 35 – 41, 89. [林忠莲, 张立力, 2001. 磷化氢对谷蠹和玉米象成虫体内乙酰胆碱酯酶的影响. 郑州工程学院学报, 22(4): 35 – 41, 89]
- Liu T, Li L, Li BS, Zhan GP, 2017. Phosphine inhibits transcription of the catalase gene through the DRE/DREF system in *Drosophila melanogaster*. *Sci. Rep.*, 7: 12913.
- Liu T, Li L, Zhang FH, Wang YJ, 2015. Transcriptional inhibition of the catalase gene in phosphine-induced oxidative stress in *Drosophila melanogaster*. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 124: 1 – 7.
- Malekpour R, Arnold PA, Rafter MA, Daglish GJ, Walter GH, 2020. Effects of sublethal phosphine exposure on respiration rate and dispersal propensity of adult females of *Tribolium castaneum*. *J. Pest Sci.*, 93(1): 149 – 157.
- Nath NS, Bhattacharya I, Tuck AG, Schlipalius DI, Ebert PR, 2011. Mechanisms of phosphine toxicity. *J. Toxicol.*, 2011: 494168.
- Nayak MK, Daglish GJ, Phillips TW, Ebert PR, 2020. Resistance to the fumigant phosphine and its management in insect pests of stored products: A global perspective. *Annu. Rev. Entomol.*, 65: 333 – 350.
- Nguyen TT, Collins PJ, Ebert PR, 2015. Inheritance and characterization of strong resistance to phosphine in *Sitophilus oryzae* (L.). *PLoS ONE*, 10(4): e0124335.
- Park BS, Lee BH, Kim TW, Ren YL, Lee SE, 2008. Proteomic evaluation of adults of *Rhyzopertha dominica* resistant to phosphine. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 25(1): 121 – 126.
- Pimentel MAG, Faroni LRA, Corrêa AS, Guedes RNC, 2012. Phosphine-induced walking response of the lesser grain borer (*Rhyzopertha dominica*). *Pest Manag. Sci.*, 68(10): 1368 – 1373.
- Pimentel MAG, Faroni LRD, Tótola MR, Guedes RNC, 2007. Phosphine resistance, respiration rate and fitness consequences in stored-product insects. *Pest Manag. Sci.*, 63(9): 876 – 881.
- Price NR, 1984. Active exclusion of phosphine as a mechanism of resistance in *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae). *J. Stored Prod. Res.*, 20(3): 163 – 168.
- Price NR, Dance SJ, 1983. Some biochemical aspects of phosphine action and resistance in three species of stored product beetles. *Comp. Biochem. Physiol. C Comp. Pharmacol. Toxicol.*, 76(2): 277 – 281.

- Price NR, Walter CM, 1987. A comparison of some effects of phosphine, hydrogen cyanide and anoxia in the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae). *Comp. Biochem. Physiol. C Comp. Pharmacol. Toxicol.*, 86(1): 33–36.
- Quistad GB, Sparks SE, Casida JE, 2000. Chemical model for phosphine-induced lipid peroxidation. *Pest Manag. Sci.*, 56(9): 779–783.
- Schlipalius DI, Chen W, Collins PJ, Nguyen T, Reilly PEB, Ebert PR, 2008. Gene interactions constrain the course of evolution of phosphine resistance in the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica*. *Heredity*, 100(5): 506–516.
- Schlipalius DI, Tuck AG, Jagadeesan R, Nguyen T, Kaur R, Subramanian S, Barrero R, Nayak M, Ebert PR, 2018. Variant linkage analysis using *de novo* transcriptome sequencing identifies a conserved phosphine resistance gene in insects. *Genetics*, 209(1): 281–290.
- Schlipalius DI, Valmas N, Tuck AG, Jagadeesan R, Ma L, Kaur R, Goldinger A, Anderson C, Kuang J, Zuryn S, Mau YS, Cheng Q, Collins PJ, Nayak MK, Schirra HJ, Hilliard MA, Ebert PR, 2012. A core metabolic enzyme mediates resistance to phosphine gas. *Science*, 338(6108): 807–810.
- Shan CY, Cao Y, Chen X, He X, Wang LJ, Zhang T, 2020. Research on a special device and method to measure phosphine resistance of stored grain insects. *J. Chin. Cereals Oils Assoc.*, 35(5): 152–158. [单常尧, 曹阳, 陈鑫, 何晓, 王莉君, 张涛, 2020. 储粮害虫磷化氢抗性检测设备及应用研究. *中国粮油学报*, 35(5): 152–158]
- Singarayan VT, Jagadeesan R, Nayak MK, Ebert PR, Daglish GJ, 2021. Gene introgression in assessing fitness costs associated with phosphine resistance in the rusty grain beetle. *J. Pest Sci.*, 94(4): 1415–1426.
- Valmas N, Zuryn S, Ebert PR, 2008. Mitochondrial uncouplers act synergistically with the fumigant phosphine to disrupt mitochondrial membrane potential and cause cell death. *Toxicology*, 252(1–3): 33–39.
- Wang H, Zhang M, Zhang XH, Xia LQ, 2012. Silencing of cytochrome P450 in *Sitobion avenae* and *Myzus persicae* through RNA interference. *Sci. Agric. Sin.*, 45(17): 3463–3472. [王晖, 张珉, 张小红, 夏兰琴, 2012. 利用 RNAi 技术沉默麦长管蚜与桃蚜细胞色素 P450. *中国农业科学*, 45(17): 3463–3472]
- Wang KX, Che ML, Chen EH, Jian FJ, Tang PA, 2022. Amplification refractory mutation system based real-time PCR (ARMS-qPCR) for rapid resistance characterization of *Tribolium castaneum* to phosphine. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 187: 105181.
- Wang KX, Liu MW, Wang YZ, Song W, Tang PA, 2020. Identification and functional analysis of cytochrome P450 CYP346 family genes associated with phosphine resistance in *Tribolium castaneum*. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 168: 104622.
- Wang ZY, Wang WF, Miao SY, Lu YJ, 2021. Progress in research on the relative fitness of insecticide-resistant insects. *Chin. J. Appl. Entomol.*, 58(3): 487–496. [王争艳, 王文芳, 苗世远, 鲁玉杰, 2021. 抗药性昆虫相对适合度的研究进展. *应用昆虫学报*, 58(3): 487–496]
- Wu F, Yan XP, 2011. Mechanisms and molecular monitoring of phosphine resistance in stored grain pests. *Grain Stor.*, 40(3): 8–13. [吴芳, 严晓平, 2011. 储粮害虫 PH₃ 抗性机理及分子监测研究进展. *粮食储藏*, 40(3): 8–13]
- Yadav SK, Srivastava C, Sabtharishi S, 2020. Phosphine resistance and antioxidant enzyme activity in *Trogoderma granarium* Everts. *J. Stored Prod. Res.*, 87: 101636.
- Yang F, 2008. Molecular Cloning and Sequence Analysis of cDNAs of Cytochrome P450 CYP345D3 in *Tribolium castaneum* (Herbst). MSc Thesis, Southwest University, Chongqing. [杨帆, 2008. 赤拟谷盗细胞色素 P450 CYP345D3 cDNA 基因克隆与序列分析. 重庆: 西南大学硕士学位论文]
- Yang J, Park JS, Lee H, Kwon M, Kim GH, Kim J, 2018. Identification of a phosphine resistance mechanism in *Rhyzopertha dominica* based on transcriptome analysis. *J. Asia-Pac. Entomol.*, 21(4): 1450–1456.
- Zhao HM, Yi X, Hu Z, Hu MY, Chen SH, Muhammad RUH, Dong XL, Gong L, 2013. RNAi-mediated knockdown of catalase causes cell cycle arrest in SL-I cells and results in low survival rate of *Spodoptera litura* (Fabricius). *PLoS ONE*, 8(3): e59527.
- Zuryn S, Kuang J, Ebert P, 2008. Mitochondrial modulation of phosphine toxicity and resistance in *Caenorhabditis elegans*. *Toxicol. Sci.*, 102(1): 179–186.

(责任编辑: 赵利辉)