

· 研究论文 ·

## 4-己基间苯二酚对小菜蛾酚氧化酶抑制作用研究

王树栋, 罗万春\*, 高兴祥, 丁琦

(山东农业大学 农药毒理与应用技术省级重点实验室, 山东 泰安 271018)

**摘要:** 以 4-己基间苯二酚(4HR)为效应物, 研究了其对小菜蛾酚氧化酶单酚酶和二酚酶活力的影响, 旨在为寻找新型害虫控制剂提供线索。结果表明: 该化合物对小菜蛾酚氧化酶单酚酶和二酚酶活力均有抑制作用, 其  $I_{50}$  值分别为  $0.34 \mu\text{mol/L}$  和  $0.50 \mu\text{mol/L}$ 。该化合物对单酚酶活力表达的迟滞时间有明显的延长效应, 对二酚酶的抑制作用表现为典型的可逆竞争性抑制类型, 其抑制常数  $K_i$  为  $0.17 \mu\text{mol/L}$ 。通过研究金属离子和酶液对 4-己基间苯二酚吸收峰的影响后推测, 该化合物对小菜蛾酚氧化酶产生的抑制作用可能与直接影响该酶活性中心的铜离子有关。

**关键词:** 4-己基间苯二酚; 小菜蛾; 酚氧化酶; 抑制剂; 抑制机理

中图分类号: Q 965.9 文献标识码: A 文章编号: 1008-7303(2004)03-0031-06

### Inhibitory Effects of 4-Hexylresorcinol on Phenoloxidase of Diamondback Moth, *Plutella xylostella*

WANG Shu-dong, LUO Wan-chun\*, GAO Xing-xiang, DING Qi

(Key Laboratory of Pesticide Toxicology and Application Technique, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China)

**Abstract:** In order to provide theory foundation for developing the insecticide with novel modes of action, the effects of 4-hexylresorcinol (4HR) on the phenoloxidase (PO) from *Plutella xylostella*, which is one of the key enzymes in the development process of insects, were studied. The results showed that 4-hexylresorcinol could inhibit both monophenolase and diphenolase activity of PO, partially purified by 40% saturated  $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$  and Sephadex G-100 gel filtration. The median inhibitory concentrations ( $I_{50}$ ) were estimated to be  $0.34 \mu\text{mol/L}$  for monophenolase and  $0.50 \mu\text{mol/L}$  for diphenolase, respectively. 4HR can also prolong the lag time of PO for oxidation of L-tyrosine and was found to be a reversible competitive inhibitor with the  $K_i$  of  $0.17 \mu\text{mol/L}$ . In addition, the ability of 4HR to affect copper in the enzyme directly may be an important reason to inhibit the enzyme activity.

**Key words:** 4-hexylresorcinol; *Plutella xylostella*; phenoloxidase; inhibitor; inhibitory mechanism

酚氧化酶(Phenoloxidase, PO, EC. 1.14.18.1), 又称为酪氨酸羟化酶(Tyrosinehydroxylase)或酪氨酸酶(Tyrosinase), 广泛存在于动物、植物、真菌和细菌体内。该酶在昆虫的正常发育过程中具有重要的生理功能: (1) 参与表皮的硬化和黑化<sup>[1]</sup>; (2)

对卵壳有鞣化作用; (3) 参与伤害防御; (4) 加速伤口的愈合<sup>[2]</sup>。另外, 当昆虫受伤时, 损伤部位出现黑色素沉淀以防止血淋巴丢失, 并阻止入侵的微生物乘机进入。在此过程中, 酚氧化酶起着重要作用, 该酶

\* 收稿日期: 2004-02-27; 修回日期: 2004-05-08

作者简介: 罗万春(1951-), 男, 河北定州人, 理学博士, 教授, 博士生导师, 主要从事昆虫毒理学及环境友好农药研究

联系电话: 0538-8242983; E-mail: wcluo@sdau.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30270887)。

催化单酚羟基化为二酚(如 $L$ -DOPA),并把二酚氧化成醌,醌则在酶促条件下最终生成黑色素<sup>[3]</sup>。鉴于酚氧化酶在昆虫的生长发育过程中具有非常重要的作用,有可能作为害虫控制剂中的一个重要靶标,可通过抑制害虫体内酚氧化酶的活力,使害虫“软化”、畸形或丧失防御能力从而达到合理控制害虫的目的。1993年,我国著名昆虫毒理学家张宗炳和冷欣夫先生就曾经指出:“探索新杀虫药剂的一条最有希望的途径是生物合理途径,其中酪氨酸酶(即酚氧化酶)抑制剂名列前茅”<sup>[4]</sup>。

4-己基间苯二酚(4-hexylresorcinol, 4HR)是一种抑制褐变的新型抑制剂。McEvily等首先提出,4HR是虾中酪氨酸酶的有效抑制剂,并且安全性高<sup>[5]</sup>。Wititsuwannakul等提出4HR可有效抑制植物中酚氧化酶的活力<sup>[6]</sup>。4HR现已应用于蘑菇、马铃薯、苹果等果蔬的保鲜领域<sup>[7]</sup>,但国内外尚无有关其对昆虫酚氧化酶抑制作用的研究报道。小菜蛾是世界上难以治理的重要蔬菜害虫之一,寻找既对害虫有效又对环境友好的害虫控制剂正日益成为农药研究领域的热点。酚氧化酶抑制剂理论可以为发展新型害虫控制剂提供重要线索。作者研究了4HR对小菜蛾酚氧化酶的抑制作用,旨在为开发以该酶为靶标的新型害虫控制剂提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试昆虫

供试小菜蛾 *P. lutella xylostella* 采自泰安效区,在本研究室养虫室内(温度  $25 \pm 1$ ,相对湿度 60%~70%,光周期为 14L:10D)以改良的蛭石油菜苗法继代饲养<sup>[8]</sup>。

### 1.2 主要仪器及试剂

CR22 高速冷冻离心机(日本日立公司);UV-2201 紫外分光光度计(日本岛津公司);电动恒温水浴摇床(上海华光仪器公司);H-1 自动核酸蛋白分离层析仪(上海沪西分析仪器厂)。

4-己基间苯二酚(4HR)(Sigma公司); $L$ -酪氨酸(Tyr)(上海伯奥生物科技有限公司);邻苯二酚(天津市科密欧化学试剂开发中心);Sephadex G-100(北京欣经科生物技术公司);考马斯亮蓝(G-250)(进口分装);硫酸钙、硫酸镁、硫酸铜(天津市博迪化工有限公司);二甲基亚砜(DMSO)(天津市天河化学试剂厂);磷酸二氢钠(中国兖州化工厂);磷酸氢二钠(山东省化工研究院);硫酸铵(天津

市大茂化学仪器供应站)。上述各试剂除 Sephadex G-100 为生化纯外,其余均为分析纯。

### 1.3 酶液制备

取小菜蛾 4 龄幼虫 80 头,按照每克虫重 8 mL 的剂量加入 0.02 mol/L、pH 6.5 的磷酸缓冲液,放在预冷的匀浆器中,在冰浴中充分匀浆,然后将匀浆液转移至离心管中,在高速冷冻离心机上以 8 000 r/min 离心 30 min,除去液面上的脂类和色素后,取上清液作为粗酶源。加入固体硫酸铵使其饱和度为 40%,在冰浴下静置 30 min 后,于 8 000 r/min、0 条件下离心 30 min。收集最后所得沉淀并溶解在少量体积的相同磷酸缓冲液(pH=6.5)中,然后在缓冲液中透析过夜,其间更换 3 次透析液。浓缩后经 Sephadex G-100 凝胶过滤,即得到部分纯化的小菜蛾酚氧化酶酶源。以每分钟每毫克蛋白吸光度提高 0.001 定义为 1 个酶活力单位(U),则本实验所用初纯化后酶的比活力为 1 020 U。

### 1.4 测定方法

1.4.1 蛋白质含量测定 采用考马斯亮蓝 G-250 法,以牛血清蛋白(BSA)为标准蛋白<sup>[9]</sup>。

1.4.2 PO 单酚酶活力测定 以 1 mmol/L  $L$ -酪氨酸为底物,将抑制剂首先溶解于 DMSO 溶剂中。在 3 mL 0.02 mol/L 的磷酸缓冲液(pH 6.5)测活体系中,将 0.1 mL 不同浓度的效应物溶液与 2.5 mL 用缓冲液配制好的底物溶液混匀,在 30 恒温水浴中稳定 30 min 后,加入 0.4 mL 酶液,于 475 nm 波长下测定光密度随时间变化的增长曲线。

1.4.3 PO 二酚酶活力测定 参照 Benjamin 和 Montgomery 的方法<sup>[10]</sup>并略有改进。以 0.1 mol/L 邻苯二酚溶液为底物,抑制剂首先溶解于 DMSO 溶剂中。在 3 mL 0.02 mol/L 的磷酸缓冲液(pH 6.5)测活体系中,将 0.1 mL 不同浓度的效应物溶液与 1.5 mL 底物溶液及 1.3 mL 磷酸缓冲液混匀,在 30 恒温水浴中稳定 30 min 后,加入 0.1 mL 酶液,于 400 nm 波长测定光密度随时间变化的增长直线,从直线的斜率可求得该酶活力。

1.4.4 金属离子及酶液对 4HR 最大吸收波长影响的测定 将 0.1 mL 0.06 mmol/L 的 4HR 溶液及 2.8 mL 0.02 mol/L 磷酸缓冲液(pH 6.5)与 0.1 mL 效应物溶液混合,在 30 恒温水浴中稳定 5 min 后扫描最大吸收峰。 $Ca^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$  和  $Cu^{2+}$  3 种金属离子在 3 mL 测定体系中的终浓度均为 0.3 mmol/L。

1.4.5 4HR 与 PO 的预温浴对 PO 活力影响的测

定以  $0.1 \text{ mol/L}$  邻苯二酚溶液为底物, 在  $3 \text{ mL}$   $0.02 \text{ mol/L}$  的磷酸缓冲液 ( $\text{pH} 6.5$ ) 测活体系中, 将  $0.1 \text{ mL}$   $0.06 \text{ mmol/L}$  的效应物溶液、 $0.1 \text{ mL}$  酶液及  $1.3 \text{ mL}$  磷酸缓冲液混匀, 在  $30^\circ\text{C}$  恒温水浴中稳定  $5 \text{ min}$  后, 加入提前在相同温度条件下温浴好的  $1.5 \text{ mL}$  底物溶液, 活力测定方法同 1.4.3。

## 2 结果与分析

### 2.1 4HR 对 PO 单酚酶活力的影响

将反应体系起始时的吸光度定为零, 小菜蛾 PO 单酚酶催化反应的进行曲线见图 1。开始时, 产物形成量缓慢增加, 到一定时间后呈直线上升, 反应体系达到恒定的斜率, 说明反应达到稳定态。直线外推得到的横截距为迟滞时间<sup>[11]</sup>。由该曲线可看出, 酶反应的迟滞时间随抑制剂浓度的增大而增大, 而稳态酶活力(直线部分的斜率)随抑制剂浓度的增大而下降, 说明抑制剂对单酚酶活性有明显的抑制作用。图 2 表示抑制剂对该酶稳态酶活力的影响, 图 3 表示抑制剂对该酶催化 *L*-酪氨酸迟滞时间的影响。

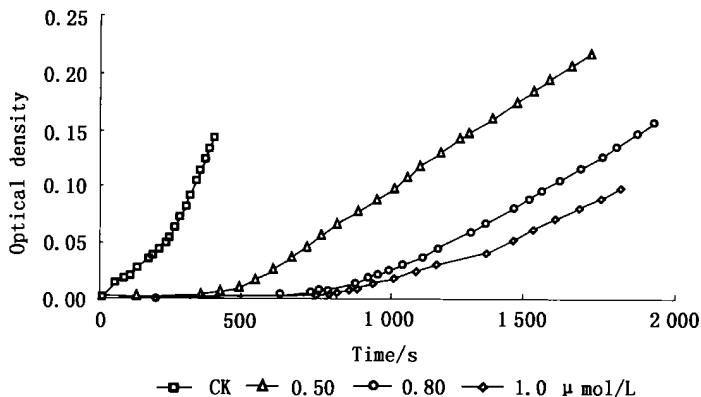


Fig 1 The progress for the inhibition of PPO by 4-hexylresorcinol (4HR)

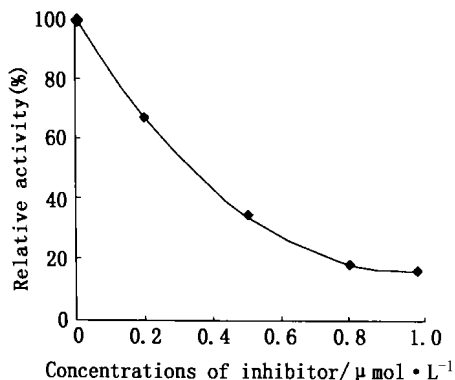


Fig 2 Effect of 4HR on the steady-state activity of monophenolase

由图 2 和图 3 可看出: 随着抑制剂浓度的增加, 酶反应的迟滞时间迅速增大, 该酶稳态酶的活力明显下降。抑制剂浓度为零时, 迟滞时间为  $177 \text{ s}$ ; 抑制剂浓度为  $0.20 \text{ μmol/L}$  时, 迟滞时间增加到  $330 \text{ s}$ , 稳态酶活力下降  $33\%$ ; 当抑制剂浓度为  $0.50 \text{ μmol/L}$  时, 迟滞时间增加到  $800 \text{ s}$ , 稳态酶活力下降  $67\%$ 。由图 2 中该酶活力被抑制趋势曲线可求出使该酶稳态酶活力下降  $50\%$  的抑制剂浓度 ( $I_{50}$ ) 为  $0.34 \text{ μmol/L}$ 。

### 2.2 4HR 对 PO 二酚酶活力的影响

以邻苯二酚为底物, 测定 4HR 对小菜蛾 PO 二酚酶活力。结果表明, 在测定时间内, 酶反应的进行曲线均为通过原点的直线, 产物的形成量与时间成直线正比关系, 表明该酶催化邻苯二酚氧化不存在迟滞过程, 直线的斜率即为该酶活力。反应体系加入 4HR 后, 直线斜率下降, 表明 4HR 对该酶有抑制作用。图 4 表示 4HR 对二酚酶活力的抑制曲线, 可见, 随着抑制剂浓度的增大, 酶活力逐渐下降, 当抑制剂

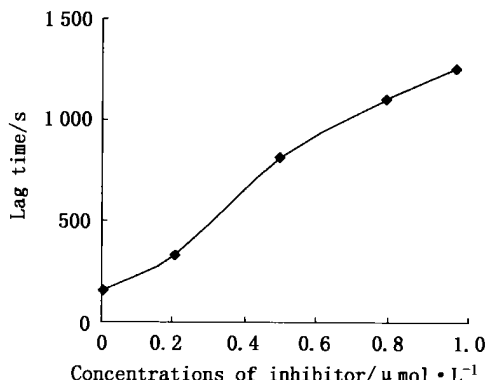


Fig 3 Effect of 4HR on the lag time of monophenolase

浓度为  $0.45 \mu\text{mol/L}$  时, 酶活力下降 45.72%, 当抑制剂浓度增大至  $1.5 \mu\text{mol/L}$  时, 酶活力下降 57.15%。由图 4 可求出抑制剂对小菜蛾 PO 活力的  $I_{50}$  为  $0.50 \mu\text{mol/L}$ 。

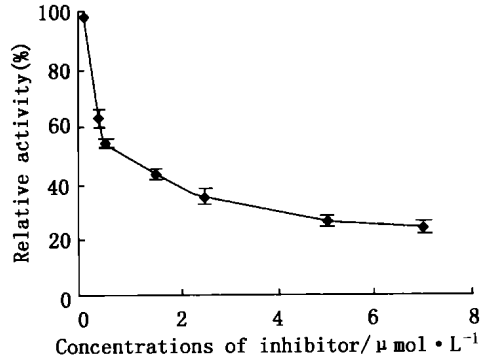


Fig 4 Effect of 4HR on diphenolase

### 2.3 4HR 对小菜蛾 PO 的抑制机理及抑制常数的测定

以邻苯二酚为底物, 测定不同浓度 4HR 下酶液量对 PO 活力的影响。结果(见图 5)表明, 在设定的抑制剂浓度下, PO 活力与酶液量的关系均为通过原点的直线, 说明 4HR 抑制该酶活力的反应为可逆性抑制。

4HR 对小菜蛾 PO 二酚酶的抑制作用机理研究: 在测活体系中, 固定酶液浓度, 改变底物邻苯二酚浓度, 测定不同抑制剂浓度下酶活力随底物浓度变化的规律。以 Lineweaver-Burk 双倒数作图(见图 6), 得到一组相交于纵轴的直线, 最大反应速率 ( $V_{\text{max}}$ ) 不变而米氏常数 ( $K_m$ ) 随抑制剂浓度的增大而

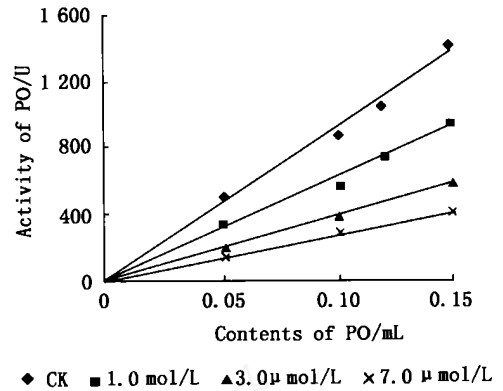


Fig 5 Effect of enzyme concentration on PO activity

增大, 表明 4HR 的抑制机理为典型的竞争性类型。  $V_{\text{max}}$  不随抑制剂浓度的变化而变化, 增大底物浓度可消除抑制剂对酶的抑制作用, 表明底物与 4HR 同酶分子的结合是互相竞争的; 而  $K_m$  随抑制剂浓度的变化而变化, 进一步表明 4HR 与酶分子的结合和底物与酶分子的结合不是相互独立的。  $K_m$  值随抑制剂浓度的增大而增大, 表明酶对底物的亲和力下降, 4HR 影响了底物与酶的结合。综合以上分析结果可得出, 4HR 对小菜蛾 PO 为可逆性竞争抑制。以不同抑制剂浓度下测得的  $K_m$  值对抑制剂浓度作图(图 6 内插图), 结果为一条直线, 从该直线的斜率可求得抑制常数 ( $K_i$ ) 为  $0.17 \mu\text{mol/L}$ 。

### 2.4 金属离子及酶液对 4HR 最大吸收波长的影响

图 7 为 4HR 中加入不同金属离子后最大吸收峰扫描图。加入  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  后, 4HR 最大吸收峰没有明显的偏移, 说明  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  没有与 4HR 直接结合; 而加入  $\text{Cu}^{2+}$  后, 4HR 的最大吸收峰有明显的

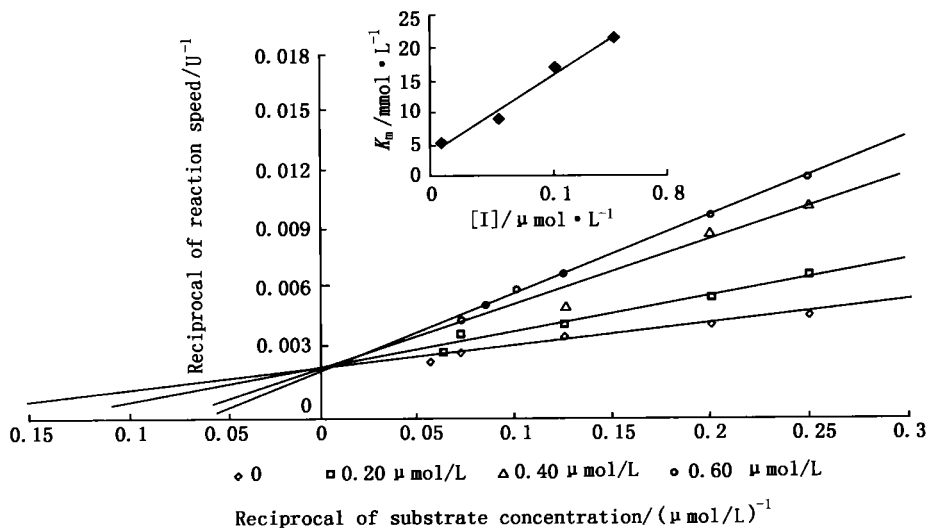


Fig 6 Detemination of the inhibition type and inhibition constant of 4HR

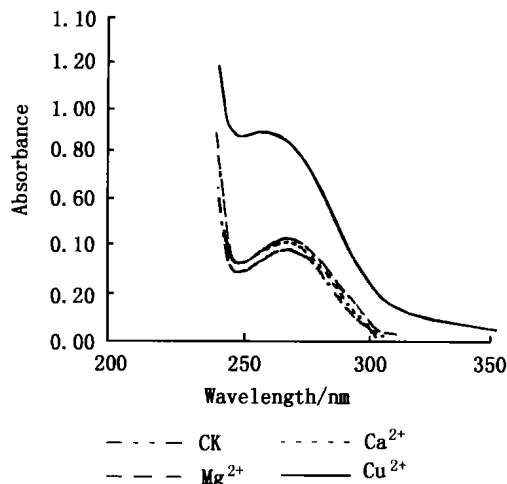


Fig 7 UV-visible spectrum of 4HR

偏移,说明 $\text{Cu}^{2+}$ 可直接与4HR结合。

为进一步明确4HR是否可直接影响小菜蛾PO活性中心的铜离子,在4HR溶液中加入一定量酶液后观察最大吸收峰的变化。由图8中结果可看出,最大吸收峰表现有明显的变化,由267 nm改变为253 nm,表明4HR可直接与小菜蛾PO活性中心的铜离子结合。

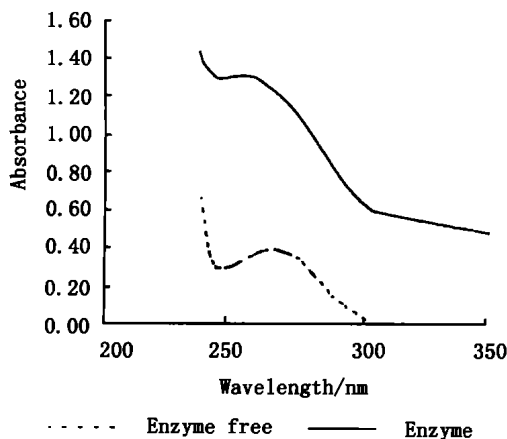


Fig 8 UV-visible spectrum of 4HR

## 2.5 4HR与PO的预温浴对PO活力的影响

将PO与4HR预先温浴后,测定其残余活力,结果比对照下降25%。因4HR对二酚酶活力表现为竞争性抑制作用,表明抑制剂分别与氧-铜离子态(Eoxy)酶、铜离子态(Emet)酶结合。经预温浴的PO多数以Emet形式存在,在Emet中,铜离子是二价的且不能结合氧分子<sup>[12]</sup>,又因只有亚铜离子态(Edeoxy)酶能结合氧分子且实验是在反应体系中氧分子饱和的前提下进行的,说明提前与抑制剂温浴的PO活性下降不是因为酶与氧分子结合而引起

的。4HR与PO预温浴后抑制活力明显提高,表明该抑制剂可直接作用于PO,从而使PO活力降低。从金属离子及酶液对4HR最大吸收波长影响的结果中可推测,抑制力的提高可能和4HR与酶活性中心的铜离子直接作用有关。

## 3 讨论

酚氧化酶具有单酚酶活性,能够催化单酚产生邻位二酚,邻位二酚进一步氧化成为相应的醌(二酚酶活性)。在催化作用过程中酶存在3种形式:氧-铜离子态(Eoxy)、铜离子态(Emet)和亚铜离子态(Edeoxy),其中Emet和Eoxy具有二酚氧化酶特性,Eoxy还具有单酚加羟酶活性,只有Edeoxy能结合氧原子<sup>[13]</sup>。

作者以L-酪氨酸为底物,测定的酶活力为单酚酶活力。加入4HR后,迟滞时间延长,稳态酶活力下降,表明该抑制剂可降低小菜蛾酚氧化酶的单酚酶活性。究其原因,可能是由于在酚氧化酶的单酚酶活性循环催化反应模型中,Emet型酶虽能和单酚底物结合,但不能进入正常的反应循环参与正常产物的生成,而该步骤可使整个催化反应体系达到稳态所需时间延长,即出现迟滞,且迟滞时间的长短也与此步骤相关<sup>[11]</sup>。4HR一方面与Emet型游离酶结合,导致酶催化单酚羟化过程的迟滞时间延长,另一方面与Eoxy型游离酶作用,抑制其活性,导致稳态酶活力的下降。Kubo等曾报道,大多数酚氧化酶的竞争性抑制剂与底物在结构上有一定的相似性<sup>[14]</sup>,同时Gerdemann等指出,结合了两个铜离子的底物羟基结合位点是酚氧化酶的活性位点之一<sup>[15]</sup>。以邻苯二酚为底物,4HR对该酶二酚酶表现为竞争性抑制作用,这可能与4HR和底物有一定的结构相似性从而与底物共同竞争结合位点相关。

酚氧化酶是结构复杂的多亚基的含铜氧化还原酶,每一个亚基含2个金属铜离子,2个金属铜离子分别与蛋白质分子中2个平展的组氨酸和1个弱的直立组氨酸配体结合,另有1个内源桥基将2个铜离子联系在一起,构成酚氧化酶催化氧化反应活性中心<sup>[16]</sup>。Siegbahn提出,在酚氧化酶催化氧化反应循环中,酚类底物先与活性中心铜离子非共价结合,然后通过连接2个铜离子的O-O键发生电子转移完成氧化过程,最终形成醌类化合物<sup>[17]</sup>。本实验结果表明,4HR可与小菜蛾酚氧化酶中的铜离子作用,推测4HR产生抑制作用的原因可能是其与小菜蛾酚氧化酶中的铜离子作用从而影响了该酶的活性

中心。至于该抑制剂如何通过影响酚氧化酶活性中心的铜离子来产生抑制作用,有待进一步研究。

酚氧化酶可能作为害虫控制剂中的一个重要靶标,通过抑制害虫体内该酶的活性达到控制害虫的目的,这是探索新型杀虫剂的生物合理途径之一。近一段时间,开始有学者关注小菜蛾酚氧化酶问题,并从该酶的生化特性、酶活性与该虫发育阶段的关系及曲酸等化合物对不同虫态小菜蛾的生物活性进行了研究<sup>[18,19]</sup>。本文报道了4-己基间苯二酚对小菜蛾酚氧化酶的抑制作用,作为基础研究,旨在为寻找新型害虫控制剂提供线索,用定量结构活性相关(QSAR)技术研究抑制剂的主要理化参数与抑制酚氧化酶活性的关系来指导抑制剂化合物的分子设计。

### 参考文献:

- [1] Lokstan M. Insect Biochemistry (昆虫生物化学) [M]. Beijing (北京): Science Press (科学出版社), 1988 151-153
- [2] Micheal R C, Kiran R, James B. Purification, characterization and molecular cloning of prophenoloxidase from *Sarcophaga bullata* [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2000, 30: 953-967.
- [3] Ashid M, Yamazaki H. Insect Biochemistry of the phenoloxidase system in insects: with special reference to its activation [A]. *Molting and Metamorphosis* [M]. Tokyo: Japanese Science Society Press, 1990 239-265.
- [4] ZHANG Zong-bing (张宗炳), LENG Xin-fu (冷欣夫). Pesticide Toxicology and Application (杀虫药剂毒力及应用) [M]. Beijing (北京): Chemical Press (化学出版社), 1993 331-337.
- [5] Frankos V H, Schmitt D F, Mcevely A J. Generally recognized as safe (GRAS) evaluation of 4-hexylresorcinol for use as a processing aid for prevention of melanosis in shrimp [J]. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 1991, 14(2): 202-212
- [6] Wititsuwannakul D, Chareyhiphakorn N, Pace M. Polyphenol oxidases from latex of *Hevea brasiliensis*: purification and characterization [J]. *Photochemistry*, 2002, 61(2): 115-121.
- [7] Lyido & gcaron an N F, Bayindirli A. Effect of l-cysteine, kojic acid and 4-hexylresorcinol combination on inhibition of enzymatic browning in Amasya apple juice [J]. *Journal of Food Engineering*, 2004, 62(3): 299
- [8] XU Jin-han (徐金汗), HUANG Zhi-peng (黄志鹏), GUAN Xiong (关雄). 生物测定虫种——小菜蛾的人工饲养及冷藏 [J]. *J Fujian Agric* (福建农业大学学报), 1997, 26(2): 187-190
- [9] Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Anal Biochem*, 1976, 72: 248-254
- [10] Benjamin N D, Montgomery M W. Polyphenol oxidase of royal ann cherries: purification and characterization [J]. *J Food Sci*, 1973, 38: 798-806
- [11] LIU Xiao-dan (刘晓丹), HUANG Huang (黄璜), CHEN Qing-xi (陈清西). 苯甲酸对蘑菇酪氨酸酶抑制作用机理的研究 [J]. *J Xiamen Univ* (厦门大学学报), 2003, 42(1): 102-106
- [12] Kubo I, Kinoshita H. Flavonols from saffron flower: Tyrosinase inhibitory activity and inhibition mechanism [J]. *J Agric Food Chem*, 1999, 47 (10): 4121-4125
- [13] Sanchez-Ferrer A, Rodriguez-Lopez J N, Garcia-Canovas F. A comprehensive review of its mechanism [J]. *Biochimica Biophysica Acta*, 1995, 1247: 1-11.
- [14] Kubo I, Swapan K, Kinoshita H. Tyrosinase inhibitory flavonoids from *Heterotheca inuloides* and their structural functions [J]. *Bioorg Med Chem*, 1994, 4 (12): 1443-1446
- [15] Gerdenann C, Eicken C, Krebs B. The crystal structure of catechol oxidase: new insight into the function of the type-3 copper proteins [J]. *Acc Chem Res*, 2002, 35(3): 183-191.
- [16] Lerch K. Copper monooxygenases: tyrosinase and dopamine  $\beta$ -monooxygenase [A]. Sigel H. *Metal Ions in Biological Systems* [M]. New York: Dekker, 1981 143-186
- [17] Siegbahn P E M. The catalytic cycle of tyrosinase: peroxide attack on the phenolate ring followed by O-O bond cleavage [J]. *J Biol Inorg Chem*, 2003, 8: 567-576
- [18] XIE Gui-ying (谢桂英), LUO Wan-chun (罗万春), MA Chen (马琛). 天然源化合物曲酸对小菜蛾酚氧化酶抑制作用研究初报 [J]. *Chin J Pestic Sci* (农药学学报), 2003, 5 (1): 68-72
- [19] LIANG Pei (梁沛), MENG Feng-xia (孟凤霞), GAO Xi-wu (高希武), et al. 小菜蛾酪氨酸酶生物化学性质研究 [J]. *Acta Entomol Sinic* (昆虫学报), 2003, 46 (5): 553-557.

(责任编辑:唐静)