

一种菊酯类复合剂对黑胸散白蚁体内 CarEs 和 Ca-ATPase 活性的影响

谭速进¹, 谭晓宏², 杜林方², 何俊华³, 唐振华⁴

(1. 成都市白蚁防治研究所, 成都 610016; 2. 四川大学生命科学学院, 成都 610064;

3. 浙江大学植物保护系, 杭州 310029; 4. 中国科学院上海昆虫研究所, 上海 200025)

摘要: 以黑胸散白蚁 *Reticulitermes chinensis* Snyder 为试验材料, 研究了一种白蚁防治复合剂中的主要成分对白蚁体内羧酸酯酶 (CarEs) 和钙-腺苷三磷酸酶 (Ca-ATPase) 的影响。结果表明: 氯菊酯在终浓度为 $1.66 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 以下时, 对羧酸酯酶无明显抑制作用; 八氯二丙醚和壬基酚聚氧乙烯醚在此浓度下都对羧酸酯酶表现出明显抑制作用, 其 IC_{50} 分别为 $7.1148 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $7.3373 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; 氯菊酯对 Ca-ATPase 表现出较强抑制作用, IC_{50} 为 $5.11 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。认为 Ca-ATPase 是黑胸散白蚁体内拟除虫菊酯类杀虫剂作用的主要靶标之一。

关键词: 黑胸散白蚁; 羧酸酯酶; 钙-腺苷三磷酸酶; 白蚁防治复合剂; 酶活性抑制

中图分类号: Q965.8 **文献标识码:** A **文章编号:** 0454-6296 (2002) 04-0441-06

Inhibition of main components of a new pyrethroid termiticide on CarEs and Ca-ATPase in *Reticulitermes chinensis* Snyder

TAN Su-Jin¹, TAN Xiao-Hong², DU Lin-Fang², HE Jun-Hua³, TANG Zhen-Hua⁴ (1. Chengdu Institute of Termite Control, Chengdu 610016, China; 2. College of Life Science, Sichuan University, Chengdu 610064, China; 3. Department of Plant Protection of Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; 4. Shanghai Institute of Entomology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200025, China)

Abstract: The inhibition of the main components of a new kind of permethrin termiticide on carboxylesterase (CarEs) and Ca-ATPase in *Reticulitermes chinensis* Snyder was investigated. The results showed that at concentration of $1.66 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ octachlorodipropyl ether and OP-emulsifier in the compound could inhibit the specific activity of CarEs, while permethrin could inhibit the specific activity of Ca-ATPase strongly. The IC_{50} values were $7.1148 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $7.3373 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ and $5.11 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ respectively. The fact that Ca-ATPase function was more strongly affected than that of Na-K-ATPase, and that permethrin could strongly inhibit the activity of Ca-ATPase on the synaptosome of *Reticulitermes chinensis*, implies that Ca-ATPase is the primary neuronal target site of pyrethroids in *Isoptera*.

Key words: *Reticulitermes chinensis*; CarEs; Ca-ATPase; termiticide compound; inhibition of enzyme activity

白蚁是世界性大害虫, 在我国大部分地区也危害严重。其危害涉及房屋建筑、河堤水库、桥梁铁路、电线电缆、林木庄稼和各种室内用品等。如何有效地对其进行预防和治理是害虫防治工作者的重要任务。近年来随着环保意识加强, 主要的传统防治药物逐步被淘汰, 有必要研制高效低毒的新型白蚁防治药物。国外已有拟除虫菊酯类白蚁防治剂问世 (李小鹰等, 1999), 国内也有拟除虫菊酯类杀

虫剂应用于白蚁防治的探索 (陈驹, 1992; 李小鹰等, 1994; 张方耀等, 1995; 许如银等, 1996; 宋晓刚等, 1996)。成都市白蚁防治研究所近年研制出拟除虫菊酯类白蚁防治复合剂 T, 经一系列室内实验和野外试验证明效果较好 (谭速进, 2000)。为进一步了解该复合剂各组分对白蚁的作用机理, 我们研究了该复合剂主要组分对黑胸散白蚁 *Reticulitermes chinensis* Snyder 体内羧酸酯酶 (CarEs) 和

钙-腺苷三磷酸酶 (Ca-ATPase) 的影响。研究发现氯菊酯对 CarEs 没有影响, 但复合剂 T 中八氯二丙醚和壬基酚聚氧乙烯醚对 CarEs 有明显抑制作用。氯菊酯对突触膜上的 Ca-ATPase 有明显抑制作用, 说明在黑胸散白蚁体内, Ca-ATPase 是氯菊酯作用的主要靶标。

1 材料与方法

1.1 化学试剂

氯菊酯 (含量 96%, 上海中西药业集团公司产品)、八氯二丙醚 (含量 90%, 上海中西药业集团公司产品)、壬基酚聚氧乙烯醚 (含量 97%, 上海中西药业集团公司产品)、NADPH (成都同正生物技术有限责任公司产品, 进口分装)、对硝基苯甲醚 (ACROS 公司产品)、Ficoll (成都同正生物技术有限责任公司产品, 进口分装)、孔雀绿 (Amresco 公司产品)、Ouabain、毒扁豆碱、ATP- Na_2 (Sigma 公司产品)、磷酸二氢钾、三氯乙酸、钼酸钠、硫酸、聚乙烯醇、考马斯亮蓝 G-250、Triton X-100、EDTA、Tris、牛血清清蛋白、NaCl、 CaCl_2 、KCl、乙醇、磷酸、 α -萘酚、坚固牢蓝 B 盐等均为国产分析纯, α -乙酸萘酯为国产化学纯。

1.2 供试白蚁

成都市白蚁防治研究所养虫室饲养的黑胸散白蚁工蚁。

1.3 生物测定

采用点滴法。药剂不同成分组合配制试液, 根据组分对试虫毒力的大小在其有效浓度区间设置测定浓度系列。先将 25 只试虫投入 25 mL 三角瓶中, 用乙醚麻醉后倒入直径 9 cm 的平皿中。用微量点滴器将待测浓度的药剂 1 μL 滴于试虫前胸背板上, 将试虫倒入铺有湿润滤纸的直径 9 cm 平皿中恢复饲养。24 h 观察并统计死亡情况, 用 ABASSAY 软件计算 LD_{50} 值。每一浓度设 3 个重复, 并设空白对照。

1.4 CarEs 活性测定

酶源制备参照谭维嘉等 (1997) 的方法。取 50 头黑胸散白蚁工蚁于玻璃匀浆器中, 加入 3 mL 0.1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的冰冷磷酸缓冲液 (含 1% Triton X-100), 匀浆。匀浆液在 $10\,000\times g$, 4°C 以下离心 20 min。取上清液作为酶源。752C 型紫外分光光度计测定 OD 值, 分析酶活力。

α -乙酸萘酯酶活力测定参照 Aspere (1962) 的

方法。反应液中含有 10 μL 的酶液, 3 mL $4\times 10^{-2}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的磷酸缓冲液 (pH 7.0), 50 μL $4\times 10^{-4}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 α -乙酸萘酯液 (含 $5\times 10^{-7}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的毒扁豆碱), 在 37°C 水浴中保温 30 min, 加入 0.5 mL 显色剂, 15 min 后 600 nm 处比色。 α -萘酚作标准曲线。

T 复合剂对 CarEs 的抑制作用测定: 将 T 复合剂主要成分分为以下几组作为待测抑制剂 (1) 氯菊酯; (2) 八氯二丙醚; (3) 壬基酚聚氧乙烯醚; (4) 氯菊酯 + 八氯二丙醚; (5) 氯菊酯 + 八氯二丙醚 + 壬基酚聚氧乙烯醚。(1)、(2)、(4) 组以乙醇为溶剂, (3)、(5) 组以蒸馏水为溶剂。每组按等比数列设置 5 个浓度系列。将酶和抑制剂在 37°C 的水浴锅中保温 10 min, 以 α -乙酸萘酯为底物测定剩余酶活力。

1.5 Ca-ATPase 活力测定

酶源制备参照 Feng 等 (1992)、肖丹青等 (1994) 及何运转等 (1999) 的方法。黑胸散白蚁工蚁 600 只于 -20°C 低温冰柜中冷冻 15 min, 加入 10 倍体积分含 0.1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris、1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDTA、0.25 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖缓冲液 (pH 7.4), 研磨匀浆, 将研磨液倒入匀浆器中再加入 20 倍体积的缓冲液进行匀浆, $1\,270\times g$ 离心 10 min, 保留上清液。取沉淀用 6 mL 0.25 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖缓冲液悬浮, $1\,270\times g$ 离心 10 min。取上清液和上次离心的上清液合并, 在 $27\,100\times g$ 离心 15 min, 取沉淀在蔗糖缓冲液中重悬浮。在 18% 和 4% (1:1) 的 Ficoll 蔗糖溶液中以 $65\,000\times g$ 梯度离心 2 h, 取出 4%、18% 界面间的悬浮物, 按 1:3 比例加入 10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl (pH 7.4) 缓冲液, $27\,100\times g$ 离心 15 min, 沉淀物用 10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl (pH 7.4) 缓冲液悬浮并稀释至所需浓度。所有操作均在 4°C 以下进行。

Ca-ATPase 活力测定: 参照冯北元等 (1981) 的方法。反应体积 100 μL , 分三组, 每组反应体系中均含 50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl (pH 7.4)、6 ~ 10 μg 蛋白质含量的酶液、5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ MgCl_2 。三组不同之处: I 组含有 0.6 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ CaCl_2 ; II 组含有 0.5 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Ouabain; III 组为对照组, 加入 50 μL 的 15% 三氯乙酸后, 再加 0.5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 ATP。各组在 37°C 水浴中预保温 5 min, 加底物 ATP (0.5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 在 37°C 水浴中反应 5 min, 加入 50 μL 的 15% 三氯乙酸终止反应。按冯北元等的方法染色, 在 752C 型紫外分光光度计 625 nm 处测定 OD 值, 求出反应中生成的无机磷的量, 计算 ATPase

的活力。

T 复合剂对 ATPase 的抑制作用：将 T 复合剂主要成分分为几组作为待测抑制剂。分组及浓度设定同羧酸酯酶测定。抑制剂与酶液在 37℃ 下预保温 5 min，再加 ATP。ATPase 活力测定方法同上。以蒸馏水为对照，每组实验重复 3 次。

蛋白质含量测定参照 Bradford（1976）的方法。

数据通过 SPSS for Windows（standard version）程序进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 生物测定

生物测定结果（表 1）表明，T 复合剂各主要成分均对黑胸散白蚁有一定毒力，但以氯菊酯为最高。当几种成分混合后杀虫效力可得到很大提高。氯菊酯中加入八氯二丙醚后可使杀虫效力提高约 19 倍，再加入壬基酚聚氧乙烯醚后，杀虫效力可增加约 30 倍。

2.2 对 CarEs 的影响

T 复合剂主要成分对羧酸酯酶的抑制作用见表 2。氯菊酯在终浓度为 $1.66 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 以下时，对羧酸酯酶无明显抑制作用。八氯二丙醚和壬基酚聚氧乙烯醚在此浓度下都对羧酸酯酶表现出明显抑制作用，其中八氯二丙醚表现出的抑制作用更强。比较组 2 和组 4，组 4 中八氯二丙醚的终浓度为 $3.4786 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 大约是组 2 的 50%，说明氯

菊酯和八氯二丙醚混合后，对羧酸酯酶的抑制作用可以得到明显增强。组 3 结果表明，壬基酚聚氧乙烯醚对羧酸酯酶有一定抑制作用，但在组 5 中却表现出使八氯二丙醚的抑制作用大大降低。因此，壬基酚聚氧乙烯醚和八氯二丙醚可能是羧酸酯酶两种竞争性抑制剂。

2.3 对 Ca-ATPase 的影响

T 复合剂主要成分对 Ca-ATPase 的抑制作用见表 3。实验表明，两个组别对 Ca-ATPase 都有较强的抑制作用。相比之下，第 2 组对 Ca-ATPase 的抑制作用明显强于只有氯菊酯的第 1 组。这可能是因为八氯二丙醚和壬基酚聚氧乙烯醚对 CarEs 的抑制作用降低了氯菊酯的水解，从而使到达靶标部位的氯菊酯分子数量较单独使用氯菊酯时为多，表现出对 Ca-ATPase 更强的抑制。

2.4 对 CarEs 和 Ca-ATPase 的 IC₅₀

从表 4 可以看出，Ca-ATPase 的活力比 CarEs 的活力高得多，这是由两种酶不同的生理功能决定的，Ca-ATPase 因其与神经传导功能密切相关而具有较高活性。通过 T 复合剂对 Ca-ATPase 和 CarEs 的平均抑制率之间进行的 *t*-检验表明，两者在 *P* = 0.05 水平时无显著差异，说明两组实验的浓度设置是恰当的，两者的 IC₅₀ 值之间可以进行比较。表中可见，T 复合剂对 Ca-ATPase 的 IC₅₀ 明显低于对 CarEs 的 IC₅₀ 值，说明复合剂对 Ca-ATPase 的抑制活性很高，间接证明 Ca-ATPase 是复合剂的主要靶标之一。

表 1 T 复合剂主要成分对黑胸散白蚁的毒力
Table 1 Toxicity of main components of T formula on *R. chinensis*

药剂成分 Component	回归方程 Regression equation	LD ₅₀ (mg/虫)	LD ₅₀ 值 (mg/虫) 95% 置信限 95% fiducial range	SE	χ ²	共毒系数 Co-toxicity coefficient
氯菊酯 permethrin	$y = 4.59 + 1.38x$	1.98×10^{-6}	$(1.28 \sim 3.06) \times 10^{-6}$	0.10	1.93*	—
八氯二丙醚 octachlorodipropyl ether	$y = 0.99 + 1.29x$	$1\ 265.66 \times 10^{-6}$	$(810.61 \sim 1\ 976.14) \times 10^{-6}$	0.10	0.18*	—
氯菊酯 + 八氯二丙醚 permethrin + octachlorodipropyl ether	$y = 5.44 + 1.54x$	0.52×10^{-6}	$(0.36 \sim 0.76) \times 10^{-6}$	0.08	1.43*	1 891.55
壬基酚聚氧乙烯醚 OP-emulsifier	$y = -1.96 + 1.43x$	$72\ 138.56 \times 10^{-6}$	$(48\ 359.74 \sim 107\ 609.50) \times 10^{-6}$	0.09	2.47*	—
氯菊酯 + 八氯二丙醚 + 壬基酚聚氧乙烯醚 permethrin + octachlorodipropyl ether + OP-emulsifier	$y = 5.67 + 1.41x$	0.33×10^{-6}	$0.22 \sim 0.50 \times 10^{-6}$	0.09	0.49*	2 980.62

卡方一栏中，“*”表示在 *P* = 0.05 水平上，实际值与理论值相符
* Indicates the observed result is fit for the expected value at *P* = 0.05 level

表 2 T 复合剂主要成分对黑胸散白蚁 α -乙酸萘酯酶活力抑制作用
Table 2 Inhibition of main components of T formula on α -naphthyl acetate in *R. chinensis*

药剂成分 Component	回归方程 Regression equation	IC ₅₀ (mol/L)	IC ₅₀ 的 95% 置信限 95% fiducial range	<i>r</i>	SE	相关检验 Correlation test
氯菊酯 permethrin	—	—	—	—	0.46	
八氯二丙醚 octachlorodipropyl ether	$y = -2.84 + 0.85x$	7.1148×10^{-5}	$3.2230 \times 10^{-5} \sim 1.0134 \times 10^{-4}$	0.958	0.14	* *
壬基酚聚氧乙烯醚 OP-emulsifier	$y = -1.66 + 0.42x$	7.3373×10^{-4}	$2.8342 \times 10^{-4} \sim 1.8995 \times 10^{-3}$	0.955	0.19	* *
氯菊酯 + 八氯二丙醚 permethrin + octachlorodipropyl ether	$y = -1.72 + 0.76x$	6.9573×10^{-6}	$2.7067 \times 10^{-6} \sim 1.7879 \times 10^{-5}$	0.971	0.15	* *
氯菊酯 + 八氯二丙醚 + 壬基酚聚氧乙烯醚 permethrin + octachlorodipropyl ether + OP-emulsifier	$y = -1.01 + 0.52x$	1.3495×10^{-5}	$5.7315 \times 10^{-6} \sim 3.1767 \times 10^{-5}$	0.989	0.08	* *

表中结果为 3 次试验平均数 Data in the table are the means of three repeated tests;
差异显著性: SPSS 统计程序进行相关检验, * 表示在 $P = 0.05$ 水平上相关显著, * * 表示在 $P = 0.01$ 水平上相关显著; 表 3 同此
Statistical significance: SPSS software was used to test for correlation, * and * * indicate significant correlation at $P = 0.05$ and $P = 0.01$ levels, respectively. The same for Table 3

表 3 T 复合剂主要成分对 Ca-ATPase 活力抑制作用
Table 3 Inhibition of main components of T formula on Ca-ATPase in *R. chinensis*

药剂成分 Component	回归方程 Regression equation	IC ₅₀ (mol/L)	IC ₅₀ 的 95% 置信限 95% fiducial range	<i>r</i>	SE	相关检验 Correlation test
氯菊酯 permethrin	$y = 0.44 + 0.16x$	5.11×10^{-7}	$6.13 \times 10^{-8} \sim 9.61 \times 10^{-7}$	0.986	0.09	* *
氯菊酯 + 八氯二丙醚 + 壬基酚聚氧乙烯醚 permethrin + octachlorodipropyl ether + OP-emulsifier	$y = 52.21 + 20.16x$	1.99×10^{-7}	$2.78 \times 10^{-8} \sim 3.69 \times 10^{-7}$	0.983	0.335	* *

表 4 T 复合剂对 CarEs 和 Ca-ATPase 的 IC₅₀ 比较
Table 4 IC₅₀ comparison of CarEs and Ca-ATPase in *R. chinensis*

酶 Enzyme	酶活力 $\pm SE$ [$\mu\text{mol}/(\text{L} \cdot \text{mg} \cdot \text{min})$] Enzyme activity $\pm SE$	IC ₅₀ $\pm SE$ (mol/L)	<i>t</i>	<i>t</i> _{0.05}
CarEs	0.61 ± 0.002	$1.35 \times 10^{-5} \pm 0.08$	0.6678	2.048
Ca-ATPase	$2.16 \times 10^6 \pm 0.034$	$1.99 \times 10^{-7} \pm 0.34$		

注 Note: *t* 测验是复合剂对 CarEs 和 Ca-ATPase 平均抑制率进行的检验, 因 $P > 0.05$, 因此认为测定的复合剂对 CarEs 和 Ca-ATPase 平均抑制率之间无显著差异 There were no significant difference between the mean inhibition rates of the T formula to CarEs and to Ca-ATPase (*t*-test, $P > 0.05$)

3 讨论

3.1 T 复合剂主要组分对 CarEs 活性的抑制作用

酯酶能够催化拟除虫菊酯类杀虫剂酯键水解, 从而降低拟除虫菊酯类杀虫剂的作用效果。羧酸酯酶 (CarEs) 是杀虫剂代谢中惟一不需要额外能量就能催化酯键水解的一类酶系 (高希武等, 1998), 它是昆虫体内杀虫剂代谢最重要的解毒酶之一, 特别是对拟除虫菊酯和有机磷杀虫剂的代谢。Cleen 等 (1994) 报道, 酯酶代谢是棉铃虫抗药性的主要机制之一。张友军等 (1997) 认为我国田间棉铃虫酯酶代谢的增强也是对拟除虫菊酯类抗性的主要因

素之一。黑胸散白蚁体内羧酸酯酶活性介于棉铃虫敏感品系和家蝇敏感品系之间 (谭速进等, 2000)。T 复合剂中的主要成分八氯二丙醚和壬基酚聚氧乙烯醚对 CarEs 都有抑制作用, 说明在复合剂中八氯二丙醚和壬基酚聚氧乙烯醚的存在可以抑制酯酶催化氯菊酯分解, 从而使更多的氯菊酯分子能够到达靶标部位, 发挥更好的杀虫效力。这也可能是进行活体毒力测定时, 八氯二丙醚和壬基酚聚氧乙烯醚对氯菊酯增效的重要原因之一。换句话说, 八氯二丙醚和壬基酚聚氧乙烯醚对 CarEs 的抑制作用, 可能是 T 复合剂对黑胸散白蚁产生增效作用的重要原因之一。

3.2 T 复合剂主要组分对 Ca-ATPase 活性的抑制

作用

研究表明, 氯菊酯对黑胸散白蚁神经膜上的 Ca-ATPase 有强烈的抑制作用, 其 IC_{50} 为 $5.11 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。在有其他解毒酶抑制因子如八氯二丙醚等存在的情况下, 抑制作用则更为明显。而对家蝇敏感品系, 浓度 $10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的氯菊酯对 Ca-ATPase 的抑制率最高也只达到 17.37% (何运转等, 2001)。相比之下, 黑胸散白蚁神经膜上的 Ca-ATPase 对氯菊酯更加敏感。

3.3 拟除虫菊酯的靶标

在许多昆虫神经突触膜上有丰富的 Na-K-ATPase 分布。Na-K-ATPase 能够使细胞逆浓度梯度运输 Na^+ 、 K^+ , 从而维持细胞膜内外 Na^+ 、 K^+ 浓度的相对恒定及渗透压的平衡, 以保证神经传导进行正常的生理功能 (Casida, 1969)。对这些昆虫而言, 拟除虫菊酯类杀虫剂的主要靶标是神经膜上的钠离子通道, 即 Na-K-ATPase (何运转等, 1999)。

Matsumura (1982) 在研究拟除虫菊酯对乌贼巨大神经轴突中依赖 Ca^{++} 的 ATP 酶作用时, 发现丙烯菊酯和天然除虫菊酯能抑制 Ca-ATPase, 而溴氰菊酯和氰戊菊酯则主要抑制 Ca-Mg-ATPase, 带有氰基的戊菊酯则抑制作用不强。由于 Ca-ATPase 是结合在神经膜外表上的酶, 它利用 ATP 分解的能量调节膜外 Ca^{++} 量, 所以 Ca-ATPase 的抑制使得轴突膜两边的 Ca^{++} 浓度梯度降低导致膜的去极化, 因而认为这可能是拟除虫菊酯毒理的分子基础; 而对 Ca-Mg-ATPase 的抑制, 由于该酶被认为参与结合细胞骨 Ca^{++} 量, 所以它的抑制增加了细胞内 Ca^{++} 量, 因为已知 Ca^{++} 是启动神经递质释放的关键, 所以拟除虫菊酯还影响了前突触区的神经递质的释放。虽然目前对 Ca-ATPase 和 Ca-Mg-ATPase 的结构与功能尚不清楚, 但看来膜内外 Ca^{++} 量的变化在拟除虫菊酯毒性中起着不容忽视的作用, 因为现在知道 Ca^{++} 在细胞内扮演着一个十分重要的调节角色, 它不仅充当细胞外信号的传递介质, 而且起着第二信使的作用 (姜家良, 1989)。

我们采用 Feng 等 (1992)、肖丹青等 (1994) 及何运转等 (1999) 的方法提取得到的黑胸散白蚁突触小体, 经用冯北元等 (1981) 的方法测定 Na-K-ATPase 活性, 结果检测不出 Na-K-ATPase 活性。用 Ouabain 对黑胸散白蚁进行活体毒力测定间接证明黑胸散白蚁神经膜上可能缺乏钠泵 (谭速进等, 2000), 实验测得突触膜上 Ca-ATPase 的活性很高, 约为 $2.16 \times 10^6 \mu\text{mol} \cdot (\text{L} \cdot \text{mg} \cdot \text{min})^{-1}$ 。而在家蝇中,

该酶约为 $0.4 \times 10^6 \mu\text{mol} \cdot (\text{L} \cdot \text{mg} \cdot \text{min})^{-1}$ (何运转等, 2001), 而 Na-K-ATPase 则较高, 为 $4.13 \times 10^6 \mu\text{mol} \cdot (\text{L} \cdot \text{mg} \cdot \text{min})^{-1}$ (何运转等, 1999)。因此, 有可能在黑胸散白蚁的神经膜上 Ca-ATPase 起着与家蝇 Na-K-ATPase 相似的作用, 即 Ca-ATPase 在神经膜上起着离子泵作用以维持神经膜电位。同时因氯菊酯对黑胸散白蚁神经膜上的 Ca-ATPase 表现出很强的抑制作用, 据此认为 Ca-ATPase 是黑胸散白蚁神经膜上氯菊酯作用的主要靶标之一。

有人报道拟除虫菊酯类杀虫剂不仅作用于钠通道, 也作用于钾通道和钙通道, 尽管这类作用是否与昆虫致死作用直接有关尚存争议 (冷欣夫等, 1996)。一种观点认为, 除虫菊酯类杀虫剂的毒理机制是“外-Ca-ATPase”受到抑制, 减少了神经膜外 Ca^{++} 浓度, 使膜电位差降低, 因而易于受刺激产生重复后放。已经发现菊酯类杀虫剂可以抑制“外-Ca-ATPase”或 Ca-Mg-ATPase。张宗炳 (1987) 认为, 也可能菊酯类对钠离子通道和“外-Ca-ATPase”的抑制是同时发生的。而黑胸散白蚁突触膜上有较高的 Ca-ATPase 活性而没有 Na-K-ATPase 活性, 可以作为研究该学说的一个有用材料进行深入研究。

就目前的研究现状看, 主张 Na-K-ATPase 为拟除虫菊酯靶标的研究, 研究材料主要来源于进化程度较高的昆虫类群, 如家蝇、棉铃虫等; 而发现 Ca-ATPase 为拟除虫菊酯靶标的研究, 材料则主要来源于较原始的类群, 如蜚蠊、白蚁等。那么, 是否由于进化程度不同而导致 Ca-ATPase 和 Na-K-ATPase 在神经膜上的结构和功能存在一定的演变, 还有待更深入的研究。

参 考 文 献 (References)

- Aspere van K, 1962. A study of housefly esterase by means of a sensitive colorimetric method. *J. Insect Physiol.*, 8: 401–406.
- Bradford M M, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72: 248–254.
- Casida J E, 1969. Radiotracer studies on metabolism, degradation, and mode of action. *Residue Rev.*, 25: 149.
- Chen J, 1992. Screening test of synergistic action of pyrethroid with synergists or insecticides to termites. *Pesticides of Jiangsu*, 3: 31–32. [陈驹, 1992. 拟除虫菊酯药剂与增效剂或杀虫剂混用对白蚁增效筛选测定. *江苏农药*, 3: 31–32]
- Cleen D C, Hoffmann A A, McDonald G, 1994. Resistance to pyrethroids in *Heliothis armigera* from corn: adult resistance, larval resistance, and fitness effects. *J. Econ. Entomol.*, 87 (5): 1 165–1 171.

- Feng B Y, Xu M Y, 1981. A sensitive method for determining the activity of Na-K-ATPase of synaptosomes in mouse brain. *Adv. Biochem. Biophys.*, (2): 48–49. [冯北元, 徐慕禹, 1981. 大鼠脑突触体 Na-K-ATPase 活力的微量测定方法. 生物化学与生物物理进展, (2): 48–49]
- Feng G L, Jacques R M, Clark J M, 1992. Suppression of pyrethroid-dependent neurotransmitter release from synaptosomes of knockdown-resistant house flies under pulsed-depolarization condition during continuous perfusion. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 42 (1): 64–77.
- Gao X W, Zhao Y, Wang X, Dong X L, Zheng B Z, 1998. Induction of carboxylesterase in *Helicoverpa armigera* by insecticides and plant allelochemicals. *Acta Entomologica Sinica*, 41 (Suppl.): 5–11. [高希武, 赵颖, 王旭, 董向丽, 郑炳宗, 1998. 杀虫药剂和植物次生性物质对棉铃虫羧酸酯酶的诱导作用. 昆虫学报, 41 (增刊): 5–11]
- He Y Z, Li M, Feng G L, Wang Y C, 1999. Inhibition of pyrethroid insecticides on nerve Na-K-ATPase in house flies (*Musca domestica*). *Acta Entomologica Sinica*, 42 (1): 19–24. [何运转, 李梅, 冯国蕾, 王荫长, 1999. 拟除虫菊酯对家蝇 Na-K-ATPase 抑制作用的研究. 昆虫学报, 42 (1): 19–24]
- He Y Z, Li M, He F Q, Feng G L, Wang Y C, 2001. Inhibition of pyrethroid insecticides on nerve Ca-ATPase, Ca-Mg-ATPase in house flies (*Musca domestica*). *Acta Entomologica Sinica*, 44 (3): 297–303. [何运转, 李梅, 何凤琴, 冯国蕾, 王荫长, 2001. 拟除虫菊酯对家蝇 Ca-ATPase 和 Ca-Mg-ATPase 的抑制作用. 昆虫学报, 44 (3): 297–303]
- Jiang J L, 1989. Advances on the study of molecular toxicology of pyrethroid insecticides. *Entomol. Knowledge*, 26 (1): 926. [姜家良, 1989. 拟除虫菊酯杀虫剂的分子毒理学研究进展. 昆虫知识, 26 (1): 926]
- Leng X F, Tang Z H, Wang Y C, 1996. *Molecular Toxicology of Insecticides and Insect Resistance*. Beijing: Chinese Agriculture Press. 65. [冷欣夫, 唐振华, 王荫长. 1996. 杀虫剂分子毒理学及昆虫抗药性. 北京: 中国农业出版社. 65]
- Li X Y, Gao D R, Xia Y Z, 1994. Effect of applying deltamethrin for controlling termites in house. *Sci. Technol. Termites*, 11 (2): 24–25. [李小鹰, 高道蓉, 夏亚忠, 1994. 溴氰菊酯防治房屋建筑白蚁应用效果试验初报. 白蚁科技, 11 (2): 24–25]
- Li X Y, Gao D R, Xu W Y, 1999. Survey of American termites and corresponding measures for prevention and treatment. *Sci. Technol. Termites*, 15 (1): 1–17. [李小鹰, 高道蓉, 徐卫英, 1999. 美国的白蚁及其防治概况. 白蚁科技, 15 (1): 1–17]
- Song X G, Lin S Q, Ruan G H, 1996. The test of preventing termite by Silonen. *Sci. Technol. Termites*, 13 (2): 9–13. [宋晓钢, 林树青, 阮冠华, 1996. Silonen 乳剂防治白蚁试验. 白蚁科技, 13 (2): 9–13]
- Tan S J, 2000. Studies on a new termiticide formula for pretreatment and its mechanism of synergism. A dissertation submitted as partial fulfillment of the requirements for the degree of doctor with major in entomology in Zhejiang Univ. 30–76. [谭速进, 2000. 黑胸散白蚁预防药剂新配方及其增效机理的研究. 浙江大学博士论文. 30–76]
- Tan S J, He J H, Tan X H, Du L F, Tang Z H, 2000. Study on the activity of some enzymes concerned with pyrethroids metabolism in subterranean termite (*Reticulitermes chinensis* Snyder). *Journal of Zhejiang University (Agric. & Life Sci.)*, 26 (6): 601–606. [谭速进, 何俊华, 谭晓宏, 杜林方, 唐振华, 2000. 黑胸散白蚁 (*Reticulitermes chinensis* Snyder) 体内几种与菊酯类代谢有关的酶活性研究. 浙江大学学报, 26 (6): 601–606]
- Tan W J, Liang G M, Guo Y Y, 1997. Study on the mechanisms of responses to deltamethrin in susceptible and resistant strains of cotton bollworm. *Acta Entomologica Sinica*, 40 (Suppl.): 43–48. [谭维嘉, 梁革梅, 郭予元, 1997. 敏感和抗性棉铃虫对溴氰菊酯毒性反应的机理研究. 昆虫学报, 40 (增刊): 43–48]
- Xiao D Q, Leng X F, 1994. Preparation of synaptosomes in house fly with the method of discontinuous Ficoll gradient procedure. *Entomol. Knowledge*, 31 (2): 101–103. [肖丹青, 冷欣夫, 1994. 不连续 Ficoll 密度梯度法分离家蝇脑突触体. 昆虫知识, 31 (2): 101–103]
- Xu R Y, Jiang D Z, Yuan X D, Ma Y X, 1996. Determination of toxicity of L·X and mixed preparation there of to *Reticulitermes flaviceps* (Oshima). *Sci. and Technol. Termites*, 13 (2): 14–15. [许如银, 姜德钊, 袁晓栋, 马引祥, 1996. LX 及其混配制剂对黄胸散白蚁 *Reticulitermes flaviceps* (Oshima) 的毒力测定. 白蚁科技, 13 (2): 14–15]
- Zhang F Y, Li S, Fan D F, 1995. Studies on sumialpha 5FL against termites: laboratory tests of soil treatment. *Pesticides*, 34 (2): 18–20. [张方耀, 李参, 樊德方, 1995. 高氰戊菊酯防治白蚁试验——室内土壤处理. 农药, 34 (2): 18–20]
- Zhang Y J, Zhang W J, Han X L, Li X F, 1997. Biochemical and physiological mechanisms of insecticide resistance in *Helicoverpa armigera* (Hübner). *Acta Entomologica Sinica*, 40 (3): 247–252. [张友军, 张文吉, 韩熹莱, 李学峰, 1997. 棉铃虫抗药性的生理生化机制研究. 昆虫学报, 40 (3): 247–252]
- Zhang Z B, 1987. *Molecular Toxicology of Insecticides*. Beijing: Agricultural Press. 63. [张宗炳, 1987. 杀虫药剂的分子毒理学. 北京: 农业出版社. 63]