

文章编号:1001-7380(2016)06-0012-03

黑翅土白蚁和黑胸散白蚁乙酰胆碱酯酶 对6种杀虫剂敏感性比较研究

周玉宝¹, 杨海江^{2*}, 汤方^{2**}

(1. 南京市浦口区林业站, 江苏 南京 211800; 2. 南方现代林业协同创新中心 南京林业大学林学院, 江苏 南京 210037)

摘要:黑翅土白蚁和黑胸散白蚁是2种重要的害虫。为了明确这2种白蚁对有机磷和氨基甲酸酯类药剂敏感性差异的机理, 本文利用分光光度法对比了6种药剂对这2种白蚁乙酰胆碱酯酶(AChE)不同时间的抑制作用, 结果表明在药剂浓度为 1×10^{-6} mol/L时, 灭多威、马拉硫磷和氧化乐果3种药剂对黑胸散白蚁AChE的抑制作用高于黑翅土白蚁, 丙溴磷对黑翅土白蚁AChE的抑制作用高于黑胸散白蚁。此研究明确了黑翅土白蚁和黑胸散白蚁对有机磷和氨基甲酸酯类药剂敏感性存在差异的机理, 为2种白蚁的防治提供了理论依据。

关键词:黑翅土白蚁; 黑胸散白蚁; 乙酰胆碱酯酶; 抑制; 杀虫剂

中图分类号:S763.306 **文献标志码:**A **doi:**10.3969/j.issn.1001-7380.2016.06.003

Difference in the sensitivity of a cetylcholinesterase to six pesticides between *Odontotermes formosanus* (Shiraki) and *Reticulitermes chinensis* (Snyder)

ZHOU Yu-bao¹, YANG Hai-jiang^{2*}, TANG Fang^{2**}

(1. Forestry Station of District Pukou, Nanjing, Nanjing 211800, China;

2. Co-Innovation Center for Sustainable Forestry in Southern China, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

Abstract: *Odontotermes formosanus* (Shiraki) and *Reticulitermes chinensis* (Snyder) are important pests. To determine the mechanism in difference sensitivity to pesticides between these two kinds of termites, the inhibition of six pesticides on a cetylcholinesterase (AChE) from *O. formosanus* and *R. chinensis* was measured using the spectrophotometer. The results showed inhibition to AChE from *R. chinensis* by methomyl, malathion and omethoate was stronger than to that from *O. formosanus* when the final concentration of insecticides was 1×10^{-6} mol/L, while inhibition to AChE from *O. formosanus* by profenofos was stronger than to that from *R. chinensis*. These results clarify the mechanism in difference sensitivity to pesticides between *O. formosanus* and *R. chinensis*, and provide a theoretical basis for the prevention of two kinds of termites.

Key words: *Odontotermes formosanus* (Shiraki); *Reticulitermes chinensis* (Snyder); Acetylcholinesterase; Inhibition; Pesticide

白蚁(Termite)是世界性五大害虫之一, 为害十分广泛, 其不仅危害房屋建筑、经济林木、船舶桥梁、江河堤围等, 还危害塑料、橡胶、沥青、金属等非纤维素物质^[1]。黑翅土白蚁 [*Odontotermes formosanus* (Shiraki)] 和黑胸散白蚁 [*Reticulitermes chinensis* (Snyder)] 在江苏危害非常严重。黑翅土白

蚁是土栖性白蚁, 主要危害林木; 黑胸散白蚁是土木两栖种, 主要危害室内的木制品, 破坏建筑物^[2]。目前, 有机磷和氨基甲酸酯类仍是这2种白蚁防治的重要药剂。

乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE, EC3.1.1.7)属于丝氨酸水解酶, 是生物神经信号传

收稿日期:2016-10-27; 修回日期:2016-12-01

基金项目:南京林业大学高学历人才基金项目“黑翅土白蚁和黑胸散白蚁对药剂敏感性的差异及其机理”(B2006-2); 江苏省高校优势学科建设工程资助项目(PAPD)

第一作者简介:周玉宝(1968-), 男, 江苏南京人, 林业工程师。研究方向: 林业病虫害防治。E-mail: zyb2008.6@163.com。

*** 并列第一作者简介:**杨海江(1985-), 男, 江苏张家港人, 大学本科毕业。

**** 通信作者:**汤方(1976-), 女, 教授, 博士。研究方向: 农药毒理与昆虫毒理。E-mail: tangfang76@njfu.com.cn。

导中的一种关键酶,也是昆虫体内一些杀虫剂作用的靶标酶^[3-4]。AChE在白蚁体内起着非常重要的作用。为了有效地控制江苏省非常重要的2种白蚁,合理用药,本文就6种杀虫剂对黑翅土白蚁和黑胸散白蚁AChE的抑制作用进行了对比。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

供试黑翅土白蚁和黑胸散白蚁都采自南京林业大学校内,取回室内后在(26±1)℃恒温,湿度为65%的黑暗条件下饲养。

1.2 化学试剂

碘化硫代乙酰胆碱(acetylthiocholine iodide, ATCh)为Fluka公司产品;5,5-二硫双硝基苯甲酸(5,5-dithio-bis-2-nitrobenzoic acid, DTNB)为Roth公司产品;其他试剂均为国产分析纯。

98.0%灭多威,湖北沙隆达农药化工;99%辛硫磷,天津农药股份;92%三唑磷,江西凯丰化工;90%丙溴磷,天津农药股份;95%马拉硫磷,河北世纪农药;92%氧化乐果,杭州庆丰农用化学品有限公司。

1.3 酶液制备

将黑翅土白蚁或黑胸散白蚁5头在1 mL预冷pH8.0值的0.1 mol/L磷酸缓冲液(含0.1% Triton X-100)中冰浴匀浆。匀浆液在4℃,15 000×g离心20 min。取上清液作为酶源。

1.4 6种杀虫剂对黑翅土白蚁和黑胸散白蚁AChE抑制时间进程曲线的制作

在Gorun方法^[5]的基础上进行改进。以丙酮溶解有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂制成母液,在使用前用pH8.0,0.1 mol/L的磷酸缓冲液将母液稀释成不同浓度的药液。将药液分别与制备好的酶液(5头/mL)混合,使有机磷或氨基甲酸酯药剂在上述混合物中的浓度为 1×10^{-6} mol/L,在40℃的水浴锅中保温,每隔1 min将此混合物取出100 μL,分别加入已盛有40 μL碘化硫代乙酰胆碱(底物)(浓度8 mmol/L)的Eppendorf管中进行催化反应,共取10个时间点。在不同时间分别取出的酶药剂混合物与底物在40℃水浴中反应5 min后,加入1.45 mL显色剂(DTNB)显色并终止反应。在412 nm处测定光密度(OD)值每处理重复3次,每个重复测定3次。

抑制率(%)=($\Delta OD_{\text{对照}} - \Delta OD_{\text{处理}}$)/ $\Delta OD_{\text{对照}} \times 100$

用杀虫剂对黑翅土白蚁和黑胸散白蚁AChE抑制率和抑制时间作图。

1.5 药剂抑制率显著性分析

本实验采用One-way ANOVA with Dunnett's post test方法进行多重比较,用GraphPad InStat version 3.00软件进行分析。

2 结果与分析

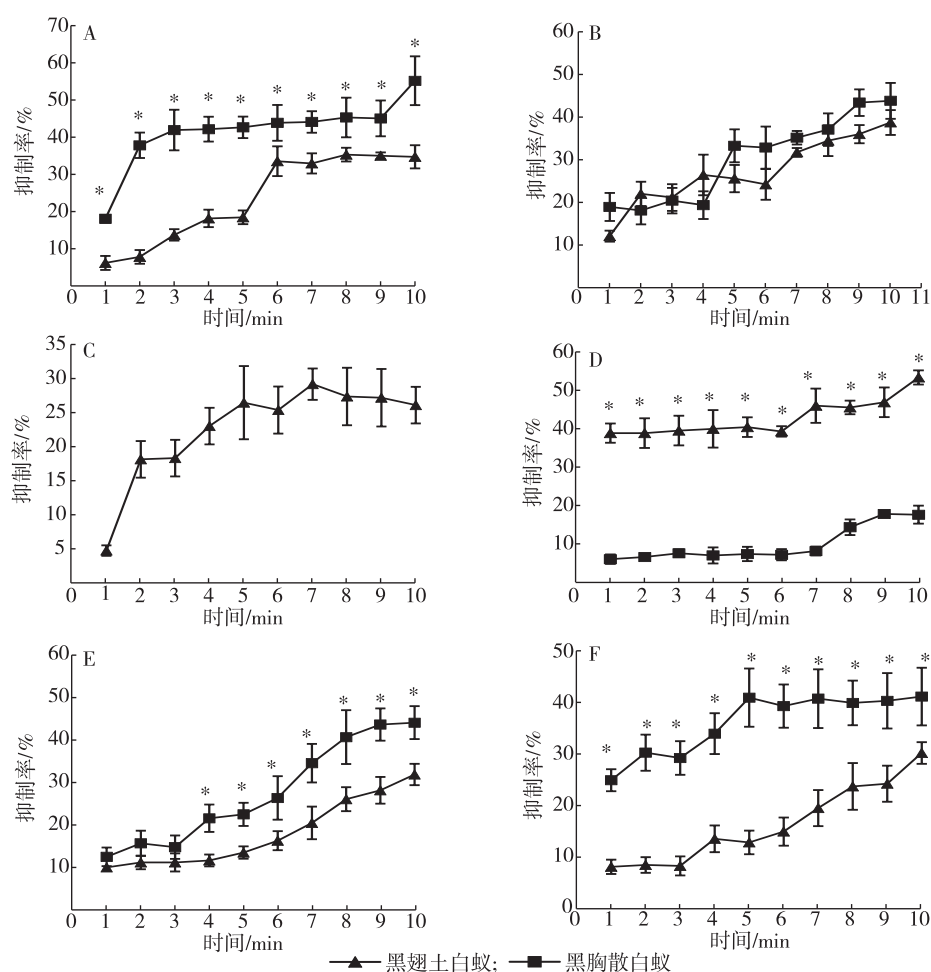
6种杀虫剂使用相同的浓度 1×10^{-6} mol/L对黑翅土白蚁和黑胸散白蚁AChE处理不同时间,测定了药剂对AChE抑制率。结果表明,除三唑磷对黑胸散白蚁AChE的抑制率因标准偏差较大而未使用外,灭多威、辛硫磷、丙溴磷、马拉硫磷和氧化乐果对2种白蚁AChE的抑制时间进程曲线的趋势基本一致,即随着抑制时间的延长,对2种白蚁AChE的抑制率均呈现上升趋势(见图1)。其中,灭多威对黑胸散白蚁AChE每分钟的抑制率都显著高于黑翅土白蚁($P<0.5$)(图1A);辛硫磷对2种白蚁AChE在各分钟的抑制率没有显著的差别($P>0.5$)(图1B);丙溴磷对黑翅土白蚁AChE每分钟的抑制率都显著高于黑胸散白蚁($P<0.5$)(图1D);马拉硫磷对黑胸散白蚁AChE处理4 min后的抑制率都显著高于黑翅土白蚁($P<0.5$)(图1E);氧化乐果对黑胸散白蚁AChE每分钟的抑制率都显著高于黑翅土白蚁($P<0.5$)(图1F)。

3 讨论

黑翅土白蚁和黑胸散白蚁在江苏省发生非常严重。黑翅土白蚁主要危害多种林木,而黑胸散白蚁主要危害住家里的木质品,由于这2种白蚁取食等生活习性的不同,这2种白蚁对药剂的敏感性存在着显著的差异^[6]。目前,有机磷和氨基甲酸酯类是防治白蚁的重要药剂,汤方等研究表明黑翅土白蚁和黑胸散白蚁对这两类药剂的敏感性存在非常显著的差异^[6]。AChE是这2类杀虫剂的作用靶标^[7],因此研究这2种白蚁AChE的特性及有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂对其抑制作用,是明确这2种白蚁对这2类药剂敏感性存在差异的机制,这对于白蚁的合理防治具有重要的意义。本研究测定了6种有机磷和氨基甲酸酯类药剂对黑翅土白蚁和黑胸散白蚁AChE不同时间的抑制作用,结果表明这2种白蚁AChE对灭多威、丙溴磷、马拉硫磷和乐果的敏感性存在显著的差异。目前关于这2种白蚁AChE对药剂敏感性差异的研究未见报道,但汤方等测定了灭多威、辛硫磷、三唑磷、丙溴磷、马拉

硫磷和氧化乐果 6 种药剂对黑翅土白蚁 AChE 的抑制中浓度,结果仅表明黑翅土白蚁 AChE 对不同药剂的敏感性不同^[8],但没有对比黑翅土白蚁和黑胸散白蚁 AChE 对药剂敏感性的差异,而本实验是对其补充完善。这些结果共同表明:同种白蚁 AChE

对不同药剂的敏感性存在差异,不同白蚁 AChE 对同种药剂的敏感性也存在着显著的差异。明确了黑翅土白蚁和黑胸散白蚁 AChE 对药剂敏感性的差异,对于 2 种白蚁的合理防治,减少对环境的污染都具有理论意义。



A:灭多威; B: 辛硫磷; C: 三唑磷; D: 丙溴磷; E: 马拉硫磷; F: 氧化乐果
*表示同种药剂处理相同时间对 2 种白蚁 AChE 的抑制率存在着显著差异 ($P < 0.05$)
图 1 6 种药剂对黑翅土白蚁和黑胸散白蚁 AChE 抑制时间进程曲线

参考文献:

- [1] 刘晓燕, 钟国华. 白蚁防治剂的现状和未来[J]. 农药学报, 2002, 4(2): 14-22.
- [2] 汤 方, 朱 涛, 高希武, 等. 七种抑制剂对两种白蚁谷胱甘肽 S-转移酶活性抑制作用的比较[J]. 昆虫学报, 2007, 50(12): 1225-1231.
- [3] CORBETT J R, WRIGHT K, BAILLIE A C. The Biochemical Mode of Action of Pesticides. New York: Academic Press. 1984, 99-140.
- [4] 林建国, 张传溪, 唐振华. 与昆虫抗药性相关的乙酰胆碱酯酶基因突变研究进展[J]. 农药学报, 2005, 7(1): 1-6.
- [5] GORUN B, PROINOU L, BALTESCU B. Modified Ellman proce-

dure for assay of cholinesterases in crude enzymatic preparations [J]. Analytical Biochemistry, 1978, 86: 324-326.

- [6] 汤 方, 崔 荔, 严敖金, 等. 黑翅土白蚁和黑胸散白蚁对药剂敏感性的差异[C]//李典谟, 武春生, 伍一军, 等. 昆虫学动态: 中国昆虫学第八次全国代表大会暨 2007 年学术年会论文集. 2007: 333-338.
- [7] 郭 晶, 高菊芳, 唐振华. 乙酰胆碱酯酶的动力学机制及其应用[J]. 农药, 2007, 46(1): 18-21, 28.
- [8] 汤 方, 杨海江, 高希武, 等. 黑翅土白蚁乙酰胆碱酯酶最佳反应体系的建立及药剂敏感度比较[J]. 昆虫学报, 2008, 51(7): 714-719.