

甲醚菊酯和溴氰菊酯在果蝇幼虫外周神经系统的协同毒理作用

刘贤进 杜正文

(江苏省农业科学院植物保护研究所 南京 210014)

王荫长 尤子平

(南京农业大学植物保护系 南京 210095)

赵勇

(南开大学生物学系 天津 300071)

摘要 本文运用细胞内微电极记录技术研究了甲醚菊酯和溴氰菊酯对果蝇 *Drosophila melanogaster* 幼虫神经-肌肉突触兴奋性接点电位(EJP_s)的影响。用甲醚菊酯(1.49×10^{-8} mol/L)处理后引起果蝇EJP_s的自发释放增加和刺激后的重复后自发释放。而用溴氰菊酯(1.0×10^{-8} mol/L)处理的则无明显影响。这显示甲醚菊酯对果蝇外周神经主要为I型毒理作用。而溴氰菊酯则主要为II型作用,甲醚菊酯和溴氰菊酯联合应用后,则产生兼具I型和II型特征的自发释放或诱发EJP_s发放。自发释放或重复后自发释放的频率和幅值随联合处理中甲醚菊酯和溴氰菊酯的配比而变化。这些结果说明甲醚菊酯和溴氰菊酯对果蝇幼虫外周神经的毒理具有协同作用。

关键词 果蝇幼虫, 甲醚菊酯, 溴氰菊酯, 外周神经系统, 协同作用

拟除虫菊酯类杀虫剂的基本毒理作用是改变钠通道的通透性,但不同品种菊酯之间的毒理、中毒行为、活性差异也很大。I型菊酯和II型菊酯之间的毒理差异一直是一项重要研究内容^[1]。特别是单一使用DDT可诱发受体结构变异从而导致抗药性^[2],使得开展品种间毒理差异的研究成为抗性治理的一项基本研究内容。另一方面,为了实现对害虫快速高效防治,两种以上拟除虫菊酯联合应用已被采用,因而两类菊酯联合应用过程中毒理效应的协同作用特点有待进一步明确。Scott等^[3]曾发现氯氰菊酯对经丙烯菊酯诱发的蜚蠊 *Periplaneta americana* 中枢神经重复后自发释放具有抑制作用。本项工作就甲醚菊酯和溴氰菊酯联合应用对果蝇幼虫外周神经的毒理机制作初步探索。

1 试验材料与方方法

1.1 试验材料与药品

本试验用试虫为室内饲养的正常型果蝇(CS)3龄幼虫。

供试药剂:90%甲醚菊酯原药为江苏省扬州农药厂生产;98%溴氰菊酯原药从法国罗素优克福公司进口。药剂先以分析纯丙酮配制成 10^{-2} mol/L的母液,使用时再以

果蝇生理溶液配制成所需浓度的药液供试验所需。

1.2 电生理试验方法

本项试验参照 Jan 等^[4] 和刘安西等^[5] 的方法进行。果蝇幼虫运动神经 - 腹纵肌联接标本的处理和电极安放均在倒置显微镜下运用 Leitz 显微操作器完成。通过吸引电极对果蝇第 V、VI 腹神经节外周神经施加电压为 0.4 ~ 0.8 V, 时程为 1 ~ 3 ms 的方波刺激。再以插入相应节段腹纵肌细胞内的玻璃微电极记录神经 - 肌肉细胞的兴奋性接点电位(EJP_s), 并通过微电极放大器, 输入记忆示波器记录、照相。试验在室温 26 ~ 32 °C 条件下进行。

果蝇幼虫生理溶液配方: NaCl, 128.0 mmol/L; KCl, 2.0 mmol/L; CaCl₂ 1.8 mmol/L; MgCl₂ 14.0 mmol/L; 蔗糖 35.5 mmol/L; pH 7.1。

2 试验结果

2.1 对自发性EJP_s的作用

在果蝇幼虫运动神经 - 肌肉细胞接点标本稳定 30min 后, 自发性 EJP_s 基本消失。用滴管对标本进行药液浸浴处理。当加入 1.49×10^{-8} mol/L 甲醚菊酯药液时, 可产生连续的 EJP_s 发放, 从高频连续发放逐渐降低频率和幅值。用药处理后 5min 的平均发放频率为 100 ~ 160 次/min, 幅值为 22 ~ 26 mV (图版 I: 1A-1)。而到处理后 35min 时频率为 60 ~ 110 次/min, 幅值降至 18 ~ 22 mV (图版 I: 1A-2)。甲醚菊酯处理后, EJP_s 自发释放时间平均可长达 1h 以上, 后期为间隙性发放。以溴氰菊酯 1.0×10^{-8} mol/L 药液处理样本, 在药处理后 2h 内, 无自发 EJP_s 发放, 或仅偶有 1 ~ 2 个发放峰。处理后 5 min 和 35 min 的代表性结果分别参见图版 I: 1B-1 和 1B-2。

在两种菊酯联合应用处理中, 在甲醚菊酯 1.49×10^{-8} mol/L 处理后 5 min, 再加入 1.0×10^{-8} mol/L 溴氰菊酯处理 2 min 后, 甲醚菊酯所发的 EJP_s 自发释放出现下降。联合处理 5 min 后, 样本 EJP_s 的平均发放频率为 30 ~ 80 次/min, 幅值为 7 ~ 10 mV (图版 I: 1C-1)。到联合处理后 35 min, EJP_s 的发放频率下降至 10 ~ 40 次/min, 表现为间隙性发放, 一般为每次 4 ~ 6 个峰。幅值降至 6 ~ 7 mV (图版 I: 1C-2)。

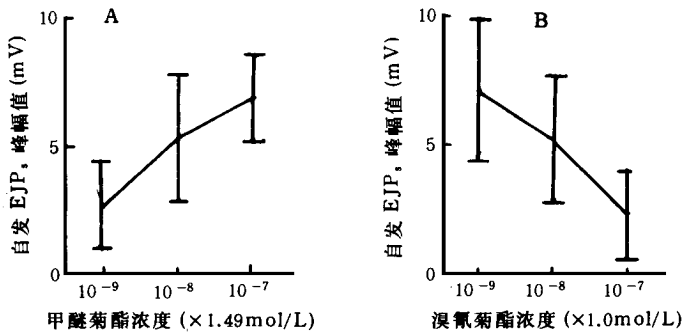


图 1 药剂不同配比对 EJP_s 发放峰幅值的影响

A 为甲醚菊酯浓度由低到高, 而溴氰菊酯浓度为 1×10^{-8} mol/L 时, 联合处理后 30 min 的自发 EJP_s

峰电位值变化。B 为溴氰菊酯浓度由低到高, 而甲醚菊酯浓度为 1.49×10^{-8} mol/L 时,

联合处理后 30 min 自发 EJP_s 的峰电位值变化

在溴氰菊酯 1.0×10^{-8} mol/L 处理后 5 min, 再加入 1.49×10^{-8} mol/L 甲醚菊酯处理, 则在 2 ~ 3 min 后, 可见到样本的 EJP₀ 自发释放增加, 到联合处理后 5 min, EJP₀ 自发释放频率为 10 ~ 30 次 /min, 幅值 2 ~ 4 mV (图版 I: 1D-1)。此后, 自发释放频率仍有所上升, 但幅值仅在联合处理后 10 ~ 20 min 之间有明显增加, 最高幅值达到 14 ~ 16 mV, 此后又下降, 到联合应用后 35 min, 自发释放频为 40 ~ 80 次 /min, 幅值为 5 ~ 10 mV (图版 I: 1D-2)。图 1 列出了以不同浓度甲醚菊酯和溴氰菊酯同时处理样本 30 min 后所引起 EJP₀ 自发释放峰幅值变化的结果。由图中可以看到: 当甲醚菊酯浓度提高, 而溴氰菊酯浓度不变时, 样本 EJP₀ 平均幅值升高; 相反, 当溴氰菊酯浓度提高而甲醚菊酯浓度不变时, 则 EJP₀ 的平均幅值呈下降趋势。

2.2 对诱发性 EJP₀ 的作用

甲醚菊酯 1.49×10^{-9} mol/L 处理果蝇幼虫神经 - 肌肉联接标本, 单一方波刺激后即可诱发 EJP₀ 重复后发放, 图版 I 中的 2A-1 和 2A-2 显示 1.49×10^{-8} mol/L 浓度处理后 5 min、35 min 的重复后发放, 但从这一结果也可看到甲醚菊酯对神经传导阻断时间较长。而溴氰菊酯 1.0×10^{-8} mol/L 处理, 则不诱发 EJP₀ 重复后发放, 但对神经传导阻断时间短 (图版 I: 2B-1、2B-2)。两种菊酯联合应用对诱发性 EJP₀ 重复后发放的结果显示与自发性 EJP₀ 相似。当甲醚菊酯 (1.49×10^{-8} mol/L) 处理后 5 min 再加入 1.0×10^{-8} mol/L 甲醚菊酯处理, 则联合处理后 5 min, 刺激后可见到偶有 1 ~ 2 次诱发 EJP₀ 释放 (图版 I: 2D-1), 而到联合处理后 35 min, 则诱发 EJP₀ 发放峰可多达 5 ~ 8 个, 但幅值下降明显 (图版 I: 2D-2)。

从上面试验结果可以看出: 甲醚菊酯处理果蝇幼虫外周神经, 能引起 EJP₀ 的持续发放和刺激后重复后发放, 显示较典型 I 型菊酯的毒理作用特征, 而溴氰菊酯处理后, 对果蝇幼虫外周神经的作用是较典型的 II 型菊酯毒理作用特征。当两种菊酯联合应用后, EJP₀ 自发释放和诱发重复后发放均表现为 I 和 II 型毒理作用的过渡类型。即偶有连续自发 EJP₀ 发放, 和刺激后有频率较低、幅值较小的重复后发放。而联合处理中甲醚菊酯和溴氰菊酯处理先后和剂量的大小决定了 EJP₀ 自发释放和重复后发放出现的先后与强弱, 表明这两种药物的联合应用对 EJP₀ 的毒理作用具协同作用的特征, 两种菊酯联合毒理效果相当于两种药物各自毒理作用的相加。

3 讨论

昆虫外周神经的毒理作用较中枢神经对昆虫中毒行为有更紧密的联系^[1], 本项工作中甲醚菊酯对 EJP₀ 的兴奋作用与该药的击倒作用快是一致的, 这和 Briggs 等^[6]对其他 I 型菊酯的研究结果相符。而溴氰菊酯对家蝇飞行肌运动神经的测定结果也表明其典型的 II 型菊酯的毒理作用特征^[7]。两种类型菊酯联合应用后, 神经毒理可能存在相互作用。Scott 等^[3]1981 年就提出氯氰菊酯对丙烯菊酯诱发的重复后发放具“抑制”作用, 从而联合应用后, 毒理作用表现 I 型和 II 型菊酯的过渡性反应特征。本项工作结果进一步可以看到: 溴氰菊酯对甲醚菊酯诱发的自发释放和重复后发放增强亦具“抑制”作用; 而甲醚菊酯对溴氰菊酯处理的样品 EJP₀ 的自发释放和重复后发放也具有“兴奋”作用毒理表现。而且两种菊酯同时处理时, 剂量大小决定了反应倾向程度。因此, 可以分析这两种菊酯在联合应用的两种菊酯的毒理作用表现为协同过程。这为开展这两种药

剂的联合应用提供了重要指导;另一方面,在菊酯类杀虫剂中存在如二氯苯醚菊酯这样的品种即表现过渡性毒理作用^[3]。因此,从各种菊酯在分子毒理上差异主要在于影响钠通道开启时间长短^[8,9]分析,甲醚菊酯和溴氰菊酯联合作用所引起的钠通道平均开放时间是否和二氯苯醚菊酯等过渡性菊酯一样,处于几百毫秒到几分钟之间,将是需要更进一步研究的内容。

参 考 文 献

- 1 Gammon D W, Brown M A, Casida J E. Two classes of pyrethroid action in the cockroach. *Pestic. Biochem. & Physiol.* 1981, **15**: 181 ~ 191
- 2 Amichet M *et al.* Target modification as a molecular mechanism of pyrethroid resistance in *Drosophila melanogaster*. *ibid*, 1992, **44** (3): 183 ~ 190
- 3 Scott J G, Matsumura F. Evidence for two types of toxic actions of pyrethroids on susceptible and DDT resistant German cockroaches *ibid*. 1983, **19**: 141 ~ 150
- 4 Jan L Y, Jan Y N. L-Glutamate as an excitatory transmitter at the *Drosophila* larval neuromuscular junction. *J. Physiol.* 1976, **262**: 215 ~ 236
- 5 刘安西, 陈守同. 昆虫神经-肌肉突触电反应-兴奋性接点电位(EJP_s)和L-谷氨酸电位的引导. 见: 昆虫电生理学实验方法. 北京: 科学出版社, 1990, 38 ~ 45
- 6 Briggs G G *et al.* Structural aspects of the knockdown of pyrethroids. *Pestic. Sci.* 1974, **5**: 643
- 7 Adams M E, Miller T A. Neural and behavioral correlates of pyrethroid and DDT-type poisoning in the housefly, *Musca domestica* L. *Pestic. Biochem. & Physiol.* 1980, **13**: 137 ~ 145
- 8 Lund A E, Narahashi T. Kinetics of sodium channel modification as the basis for the variation in the nerve membrane effects of pyrethroids and DDT analogs *ibid* 1983, **20**: 203 ~ 216
- 9 Soderlund D M *et al.* Neurotoxic actions of pyrethroid insecticides. *Ann. Rev. of Entomol.* 1989, **34**: 77 ~ 96

ELECTROPHYSIOLOGICAL JOINT ACTION OF METHOTHRIN AND DELTAMETHRIN ON THE PERIPHERAL NERVOUS SYSTEM OF *DROSOPHILA* LARVAE

Liu Xianjin Du Zhengwen

(*Institute of Plant Protection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences Nanjing 210014*)

Wang Yinchang You Ziping

(*Department of Plant Protection, Nanjing Agricultural University Nanjing 210095*)

Zhao Yong

(*Department of Biology, Nankai University Tianjing 300071*)

Abstract Electrophysiological effects of methothrin and deltamethrin on the excitatory junction potentials (EJP_s) of the *Drosophila* larval neuromuscular junction were recorded by using an intracellular microelectrode. Methothrin (1.49×10^{-8} mol/L) caused high frequency spontaneous EJP spikes and repetitive discharges, while deltamethrin (1.0×10^{-8} mol/L) did not. This study revealed that methothrin could produce hyperexcitation (Type I action) in the peripheral nervous system of the *Drosophila* larvae, but deltamethrin did not (Type II action). Combined application of methothrin and deltamethrin resulted in a composite action type, which showed both Type I and Type II action on spontaneous or stimulated EJP_s. The frequency and duration of repetitive discharges or spontaneous spikes in the combined treatment were changed according to the proportions of methothrin and deltamethrin. This suggests that there may be a noncompetitive interaction between methothrin and deltamethrin during their joint action on the peripheral nervous system of the *Drosophila* larvae.

Key words *Drosophila* larva, methothrin, deltamethrin, peripheral nervous system, joint action

图 版 说 明

图版 I

图版 1A-1: 甲醚菊酯 (1.49×10^{-8} mol/L) 处理后 5 min 自发性 EJP_s 发放。1A-2 为处理后 35 min

图版 1B-1: 溴氰菊酯 (1.0×10^{-8} mol/L) 处理 5 min 后再和溴氰菊酯 (1.0×10^{-8} mol/L) 联合应用 5 min 后 EJP_s 自发发放。1B-2 为联合应用 35 min 后

图版 1C-1: 甲醚菊酯 (1.49×10^{-8} mol/L) 处理 5 min 后再和溴氰菊酯 (1.0×10^{-8} mol/L) 联合应用 5 min EJP_s 自发发放。1C-2 为联合应用 35 min 后

图版 1D-1: 溴氰菊酯 (1.0×10^{-8} mol/L) 处理后 5 min 再和甲醚菊酯 (1.49×10^{-8} mol/L) 联合应用后 5 min EJP_s 自发发放。1D-2 为联合应用后 35 min

图版 2A-1: 甲醚菊酯 (1.49×10^{-8} mol/L) 处理后 5 min 诱发性 EJP_s 重复后放。2A-2 为处理后 35 min

图版 2B-1: 溴氰菊酯 (1.0×10^{-8} mol/L) 处理后 5 min 诱发性 EJP_s 无重复后放。2B-2 为处理后 35 min

图版 2C-1: 甲醚菊酯 (1.49×10^{-8} mol/L) 处理后 5 min 再和溴氰菊酯 (1.0×10^{-8} mol/L) 联合应用的诱发性 EJP_s 重复后发放减弱情形。2C-2 为联合应用后 35 min

图版 2D-1: 溴氰菊酯 (1.0×10^{-8} mol/L) 处理后 5 min 再和甲醚菊酯 (1.49×10^{-8} mol/L) 联合应用后 5 min 诱发性 EJP_s 出现 1 ~ 2 次重复后发放的情形。2D-2 为联合应用后 35 min

