

## 三氟氯氰菊酯对棉铃虫神经细胞钠及钙通道作用机理研究

贺秉军<sup>1</sup>, 刘安西<sup>1</sup>, 陈家童<sup>1</sup>, 孙金生<sup>2</sup>, 芮昌辉<sup>3</sup>

(1. 南开大学生命科学学院, 天津 300071; 2. 天津水产研究所, 天津 300021;

3. 中国农业科学院植物保护研究所, 北京 100094)

**摘要:** 用膜片钳技术对比分析了棉铃虫三氟氯氰菊酯抗性品系(R)及其同源对照品系(S)幼虫离体培养中枢神经细胞  $\text{Na}^+$  通道的门控特性及杀虫剂对 R 和 S 神经细胞  $\text{Na}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  通道门控过程的影响。结果表明, S 神经细胞  $\text{Na}^+$  通道电流 ( $S - I_{\text{Na}}$ ) 在  $-50 \sim -40 \text{ mV}$  激活,  $-20 \text{ mV}$  左右达峰值, R 神经细胞  $\text{Na}^+$  通道电流 ( $R - I_{\text{Na}}$ ) 在  $-40 \text{ mV}$  左右激活,  $-10 \sim 0 \text{ mV}$  达峰值, 即  $R - I_{\text{Na}}$  激活电压与峰值电压均向正电位方向移动约  $10 \text{ mV}$ , 提示二者  $\text{Na}^+$  通道门控特性不同, R 神经细胞  $\text{Na}^+$  通道功能发生了变异。三氟氯氰菊酯作用后,  $S - I_{\text{Na}}$  与  $R - I_{\text{Na}}$  的  $I \sim V$  曲线均向负电位方向移动约  $10 \text{ mV}$ ,  $S - I_{\text{Na}}$  在  $20 \text{ min}$  后基本消失, 而  $R - I_{\text{Na}}$  被阻断需时约  $90 \text{ min}$ , 延长近 5 倍, 其幅值有减小后再增大的现象。对  $\text{Ca}^{2+}$  通道分析表明, 杀虫剂作用后, R 及 S 神经细胞  $\text{Ca}^{2+}$  通道电流的  $I \sim V$  曲线均向负电位方向移动  $10 \sim 20 \text{ mV}$ , 提示三氟氯氰菊酯对  $\text{Ca}^{2+}$  通道的门控过程也有影响。与  $R - I_{\text{Na}}$  幅值起伏变化相联系, 可推知杀虫剂对神经细胞的毒性作用中,  $\text{Na}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  通道均受影响。

**关键词:** 棉铃虫;  $\text{Na}^+$  通道;  $\text{Ca}^{2+}$  通道; 三氟氯氰菊酯; 膜片钳

中图分类号: Q42 文献标识码: A 文章编号: 1000-6737(2002)02-0201-05

棉铃虫 (*Helicoverpa armigera*, Hübner) 为重要农业害虫, 神经敏感性降低是其对拟除虫菊酯类杀虫剂产生抗性的重要机制之一。神经敏感性与  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  等电压门控性离子通道的功能密切相关。但杀虫剂究竟如何影响离子通道, 通道门控特性及功能是如何变化, 从而使得害虫神经敏感性降低的原因目前并无定论。三氟氯氰菊酯 (cyhalothrin, Cyh) 是 20 世纪 80 年代开发的第三代菊酯类农药, 由于其活性高、杀虫谱广、药效迅速, 因此在我国棉田被大量使用, 使得棉铃虫已对 Cyh 产生不同程度抗性, 且近年来呈上升趋势<sup>[1]</sup>。基于上述情况, 本文利用全细胞膜片钳技术对比分析了棉铃虫 Cyh 抗性品系(R)及其同源对照品系(S)幼虫中枢神经细胞  $\text{Na}^+$  通道的门控特性, 以及 Cyh 对 R 和 S 神经细胞  $\text{Na}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  通道门控过程的影响, 以探讨棉铃虫对拟除虫菊酯类杀虫剂的抗性机制及 Cyh 对神经细胞  $\text{Na}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  通道的作用机理, 以期对抗性棉铃虫治理有所贡献。

### 1 材料和方法

#### 1.1 试虫

棉铃虫初始种群于 1992 年 8 月采自河北保定棉田。在室内用 Cyh 进行抗性淘汰筛选后获得抗性

品系(R),  $LD_{50}$  为  $0.4903 \mu\text{g}/\text{头}$ ; 其同源对照品系(S)  $LD_{50}$  为  $0.00419 \mu\text{g}/\text{头}$ 。抗性品系淘汰筛选工作由中国农业科学院植物保护研究所完成。

#### 1.2 神经细胞的分离与培养

从棉铃虫幼虫(第 3 龄)胸、腹神经节分离神经细胞。将神经节置消化酶液(0.15% 胶原酶, 0.3% 胰蛋白酶)中, 孵育 15 min 后去除神经鞘, 继续振动消化 30 min。然后移至培养液(TC-100 与 L-15 等体积混合, 增补 20% 胎牛血清, 200 mmol/L 葡萄糖, 1.0 mmol/L 谷氨酰胺, 0.6 g/L 谷胱甘肽, 80 U/ml 庆大霉素, pH 6.6)中用内径递减的玻璃管离散细胞, 并接种于 35 mm 培养皿中,  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  静置培养<sup>[2]</sup>。细胞 2 h 后可用于电生理实验。

#### 1.3 全细胞膜片钳记录

得到全细胞记录构型后, 置保持电压于  $-70 \text{ mV}$ , 给予脉冲宽度为 80 ms, 从  $-60 \text{ mV}$  到 50(或 90) mV, 以 10 mV 步幅递增的去极化电压刺激。信号由膜片钳放大器(PC-IIB, 华中理工大学)

收稿日期 2001-07-05

基金项目 国家自然科学基金资助项目(39670499, 30100119)

作者简介 贺秉军, 1973 年生, 讲师, 理学博士,

电话: (022)23509094 E-mail: hebjaeyou.com.

输出后经 5 kHz 滤波输入计算机处理。刺激脉冲序列的给出及数据采入均通过 IBBClamp 软件包和 DAQ-2B 数据采集接口装置一起构成的 IBBDigitizer 数字化系统完成。电信号记录在细胞贴壁 2~4 h 内进行。数据经 P/N 漏减除处理后进行统计分析(每个实验至少重复 5 次)。方差分析借助软件 SAS(statistical analysis system, version 6.12, 统计分析系统)完成。

记录  $\text{Na}^+$  电流的细胞外液 (mmol/L): NaCl 100, KCl 4,  $\text{CaCl}_2$  2,  $\text{MgCl}_2$  2, Hepes 10, 葡萄糖 10, 氯化四乙胺 (tetraethylammonium chloride, TEA-Cl) 20, NaOH 调至 pH6.6; 电极内液 (mmol/L): CsF 100, CsCl 40,  $\text{MgCl}_2$  3, EGTA 10, Hepes 5, CsOH 调至 pH6.6。电极电阻 3~5 M $\Omega$ 。

记录  $\text{Ca}^{2+}$  电流的细胞外液 (mmol/L): NaCl 100, CsCl 4,  $\text{CaCl}_2$  5,  $\text{MgCl}_2$  2, Hepes 10, 葡萄糖 10, TEA-Cl 20, TTX 1  $\mu\text{mol/L}$ 。电极内液为 (mmol/L): CsCl 90,  $\text{MgCl}_2$  3,  $\text{Na}_2\text{-ATP}$  2, EGTA 10, Hepes 10, 内外液均用 CsOH 调至 pH6.6。电极电阻 3~5 M $\Omega$ 。

杀虫剂: 三氟氯氰菊酯 (cyhalothrin, Cyh, 英国), 先用丙酮配制成  $10^{-3}$  mmol/L 的母液, 用时以细胞外液稀释至所需浓度。

## 2 结果

### 2.1 正常全细胞 $\text{Na}^+$ 通道电流

全细胞膜片钳条件下, 可记录到一系列快速激活与失活的  $\text{Na}^+$  电流。S 神经细胞  $\text{Na}^+$  通道电流 ( $S-I_{\text{Na}}$ ) 与 R 神经细胞  $\text{Na}^+$  通道电流 ( $R-I_{\text{Na}}$ ) 均对 TTX 敏感。 $R-I_{\text{Na}}$  到达峰值需时  $0.97 \pm 0.3$  ms ( $n=14$ ), 与  $S-I_{\text{Na}}$  的 ( $0.97 \pm 0.34$  ms,  $n=8$ ) 相近, 表明受同样条件的去极化电压刺激后, R 与 S

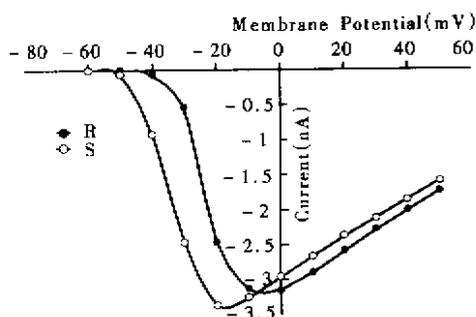


Fig.1 Current-voltage relationships for sodium channels in central neurons of sensitive (S) and Cyh-resistance (R) cotton bollworm

神经细胞的  $\text{Na}^+$  通道在相近时间内均达到了最大数目的开放。不过,  $R-I_{\text{Na}}$  ( $n=11$ ) 与  $S-I_{\text{Na}}$  ( $n=11$ ) 的  $I-V$  曲线 (图 1) 差异明显 ( $F=4.75$ ,  $P=0.0304 < 0.05$ )。S 神经细胞 (70%)  $\text{Na}^+$  通道在  $-50 \sim -40$  mV 激活,  $-20$  mV 左右电流达峰值, 而 R 神经细胞 (60%)  $\text{Na}^+$  通道在  $-40$  mV 左右激活,  $-10 \sim 0$  mV 电流达峰值 (图 1) 即 R 神经细胞  $\text{Na}^+$  通道激活电压向正电位方向移动约 10 mV, 电流达峰值的电压向正电位方向移动 10~20 mV。显示 R 与 S 神经细胞  $\text{Na}^+$  通道的门控特性有差异。

### 2.2 Cyh 对神经细胞 $\text{Na}^+$ 通道的作用

#### 2.2.1 Cyh 对 S 神经细胞 $\text{Na}^+$ 通道的作用

膜片钳全细胞模式建立后, 第 5 min 时记录一次电流作为对照, 然后用微操纵器控制加药电极将 Cyh ( $10^{-7}$  mmol/L) 加入细胞外液浸没细胞, 分析 Cyh 对神经细胞  $\text{Na}^+$  通道门控特性的影响。图 2 为

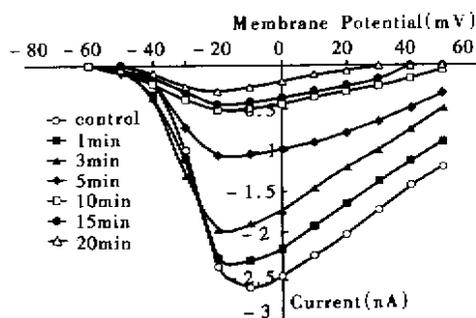


Fig.2  $I-V$  curves of  $S-I_{\text{Na}}$  after the action of cyhalothrin ( $10^{-7}$  mmol/L) at different time

不同时间  $S-I_{\text{Na}}$  的  $I-V$  曲线 ( $n=5$ )。由图可知, 杀虫剂作用后, 电流幅值持续降低, 1 min 时  $S-I_{\text{Na}}$  降幅为  $12.14 \pm 6.28\%$ , 3 min 时为  $26.15 \pm 5.52\%$ , 5 min 时为  $59.72 \pm 8.76\%$ 。随后电流进一步减小, 20 min 时降幅近  $90 \pm 12.38\%$ 。25 min 后基本记录不到  $S-I_{\text{Na}}$ 。同时通道激活电压和  $S-I_{\text{Na}}$  到达峰值的电压也在变化。Cyh 作用 3 min 后, 激活电压由对照时的  $-40$  mV 变为  $-50$  mV。峰值电压由  $-10$  mV 变为  $-20$  mV, 向负电位方向移动约 10 mV。这些结果表明 Cyh 不仅使  $S-I_{\text{Na}}$  幅值降低, 同时使  $\text{Na}^+$  通道的激活电压和峰值电压向负电位方向移动约 10 mV。

#### 2.2.2 Cyh 对 R 神经细胞 $\text{Na}^+$ 通道的作用

同样方法分析 Cyh ( $10^{-7}$  mmol/L) 对  $R-I_{\text{Na}}$  ( $n=5$ ) 的影响。Cyh 作用后, 不同时间  $R-I_{\text{Na}}$  的  $I-V$  曲线和峰值变化百分率见图 3。由图 3a-c 可知, Cyh 作用后的前 10 min,  $R-I_{\text{Na}}$  幅值持续降

低, 1 min 时降幅为  $15.26 \pm 8.62\%$ , 5 min 时为  $39.16 \pm 7.8\%$ , 10 min 时为  $41.39 \pm 9.86\%$ 。但紧接着  $R - I_{Na}$  开始增大, 并持续至第 30 min 时才降低, 35 min 时降幅为对照的  $68 \pm 10.28\%$ 。随后  $R - I_{Na}$  再次增加, 直至第 60 min 时又降低, 第 80 min 时降幅为  $92 \pm 9.84\%$ 。同时值得注意的是, 对比图 3a 和 3b 可知, Cyh 作用的起始阶段 (前 30 min), 低去极化电压时,  $R - I_{Na}$  的去极化电压依赖性明显, 其峰值随膜电位升高迅速增大。但随着作用时间延长,  $R - I_{Na}$  对去极化电压依赖性减小, 而且当膜电位高于峰值电压时,  $R - I_{Na}$  峰值变化率减小,  $I \sim V$  曲线的右侧部分斜率降低, 提示在较高膜电位时 (大于 0 mV), 尽管去极化电压以 10 mV 持续递增, 但 R 神经细胞上处于开放状态的  $Na^+$  通道数目却变化较少,  $Na^+$  通道对膜电位变化趋于不敏感。另外, 随记录时间延长, R 神经细胞  $Na^+$  通道的激活电压和通道电流达到峰值时的电压也发生漂

移。激活电压由 -40 mV 向负电位方向移动到 -50 mV。峰值电压由开始的 0 mV 向负电位方向移动至 -10 mV。这表明 Cyh 引起  $R - I_{Na}$  幅值降低的同时, 也使  $Na^+$  通道的激活电压和峰值电压向负电位方向移动约 10 mV。但与  $S - I_{Na}$  不同,  $R - I_{Na}$  在减小过程中, 其峰值有增大现象, 提示 R 神经细胞  $Na^+$  通道对杀虫剂的反应与 S 神经细胞的存在差异。

### 2.3 Cyh 对神经细胞 $Ca^{2+}$ 通道的影响

全细胞膜片钳记录中  $Ca^{2+}$  电流的 “Rundown” 现象比较普遍, 虽然提高电极内液中 ATP 浓度可起到一定的减缓作用, 但随记录时间延长 (30 min 以后),  $Ca^{2+}$  电流也有不同程度的衰减。因此这里将 Cyh 浓度提高至  $10^{-5}$  mmol/L, 以便短时间内反映出杀虫剂对  $Ca^{2+}$  通道电流的影响。结果表明, R 及 S 均有 50% 以上中枢神经细胞的  $Ca^{2+}$  通道在 -40 ~ -20 mV 激活, 0 ~ 10 mV 达峰值。细胞外液中加入杀虫剂 1 min 后,  $R - I_{Ca}$  的  $I \sim V$  曲线即向负电位方向移动 10 ~ 20 mV (图 4)。  $S - I_{Ca}$  与  $R - I_{Ca}$  的情况相似。这一结果提示 Cyh 对棉铃虫幼虫中枢神经细胞  $Ca^{2+}$  通道的门控过程也有影响。

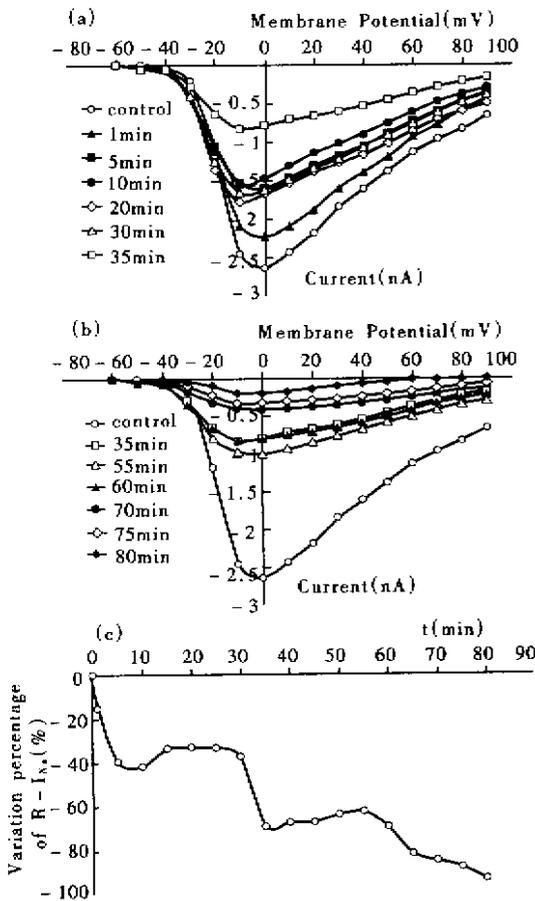


Fig.3 Action of cyhalothrin to the sodium channels in the central neurons of R larvae. (a), (b)  $I \sim V$  curve of peak  $R - I_{Na}$  at different time; (c) Variation percentage of peak  $R - I_{Na}$  vs time (see text for details)

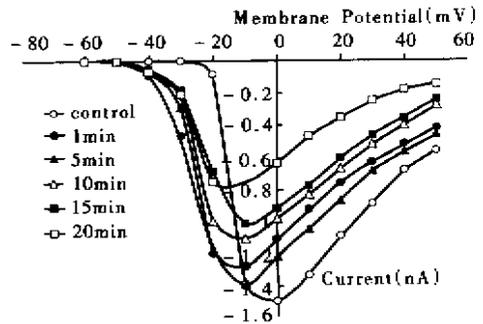


Fig.4  $I \sim V$  curve of  $R - I_{Ca}$  after the action of cyhalothrin ( $10^{-5}$  mmol/L) at different time

## 3 讨 论

### 3.1 抗性棉铃虫神经细胞 $Na^+$ 通道门控特性的变异

美国学者 Lee 等<sup>[3]</sup> 于 2000 年通过膜片钳及分子生物学方法首先将  $Na^+$  通道跨膜片段氨基酸置换与烟蚜夜蛾 (*Heliothis virescens*) 的抗药性联系起来。他们在分析敏感及二氯苯醚菊酯抗性烟蚜夜蛾神经细胞  $Na^+$  通道时, 发现抗性品系  $Na^+$  通道跨膜片段 I-S6 的氨基酸发生了置换, 即一个位点的缬氨酸突变为甲硫氨酸。与此氨基酸的突变相应, 抗性品系神经细胞  $Na^+$  通道门控特性发生了变异, 其电压依赖性激活电压向正电位方向移动约

13 mV, 稳态失活电压也向正电位方向移动 7 mV 左右。Lee 等认为烟蚜夜蛾神经细胞  $\text{Na}^+$  通道门控特性改变起因于通道跨膜片段的氨基酸置换, 由此引起抗性昆虫神经敏感性降低。本文结果显示, 全细胞膜片钳条件下, 在离体培养的 R 及 S 棉铃虫幼虫神经细胞上均可记录到快速激活与失活, 对 TTX 敏感的  $\text{Na}^+$  通道电流。S -  $I_{\text{Na}}$  与 R -  $I_{\text{Na}}$  在幅值及到达峰值所需时间上无差异, 但 I ~ V 曲线明显不同。与 S -  $I_{\text{Na}}$  相比, R -  $I_{\text{Na}}$  的激活电压向正电位方向移动约 10 mV, 峰值电压向正电位方向移动约 10 ~ 20 mV。由于进行此项研究时, 细胞外液中并无杀虫剂作用, 因此, R -  $I_{\text{Na}}$  与 S -  $I_{\text{Na}}$  在激活电压及峰值电压上的差异应来自通道门控特性本身, 即 R 神经细胞  $\text{Na}^+$  通道门控特性发生了变异, 但究竟发生了怎样的变异有待进一步研究, 因除了跨膜片段氨基酸置换会影响通道门控特性外, 通道电压感受元件 S4 段的变化对通道功能也有很大影响。S4 段氨基酸残基点突变或化学修饰会影响到通道的激活<sup>[4]</sup>。中和 S4 段多个带正电荷的残基并与正电荷突变为负电荷相结合时, 门控电荷进行性减少, 使激活的电压依赖性曲线向更正或更负的方向移动<sup>[5]</sup>。另外, 除带电荷的氨基酸外,  $\text{Na}^+$  通道 S4 段不带电荷的疏水残基在激活上也具有重要作用。单个亮氨酸残基突变为苯丙氨酸, 门控电压依赖性曲线变动约 20 mV<sup>[6]</sup>。无论如何, 可以肯定的是抗性棉铃虫神经细胞的  $\text{Na}^+$  通道功能发生了变异, 这种变异与其神经系统敏感性降低, 进而对杀虫剂产生抗药性有关, 即抗性害虫敏感性降低与  $\text{Na}^+$  通道功能变异是相关的。

### 3.2 Cyh 对棉铃虫神经细胞 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 通道的影响

许多实验表明含 CN - 基及光稳定的 II 型拟除虫菊酯, 可影响  $\text{Na}^+$  通道门控过程, 使  $\text{Na}^+$  通道长时间不关闭<sup>[7]</sup>, 但其机制目前并无定论。Osborne 等<sup>[8]</sup>认为构成  $\text{Na}^+$  通道的脂蛋白双层部分上存在拟除虫菊酯 (pyrethroid, Pys) 的结合位点, Pys 与该位点结合后可影响  $\text{Na}^+$  通道的开闭, 从而推迟通道的非激活性, 致使  $\text{Na}^+$  电流过长。但 Rossignol 等<sup>[9]</sup>认为 Pys 使昆虫神经细胞膜  $\text{Na}^+$  闸门关闭时间延长并非是 Pys 对  $\text{Na}^+$  通道的直接作用, 而是通过 G 蛋白实现的。贺锡雯等<sup>[10]</sup>以全细胞膜片钳技术分析氰戊菊酯和四甲菊酯对大鼠脑细胞的作用时发现, Pys 作用后,  $\text{Na}^+$  电流曲线左移, 推测在 Pys 的毒效应中,  $\text{Na}^+$  通道活性的变化与受体、G 蛋白及第二信

使系统有一定联系。本实验结果显示, Cyh 作用后, S -  $I_{\text{Na}}$  与 R -  $I_{\text{Na}}$  在峰值降低的同时, 其激活电压及峰值电压均向负电位方向移动约 10 mV。R -  $I_{\text{Na}}$  峰值电压在记录过程中有漂移, 且 R -  $I_{\text{Na}}$  被阻断需时约为 S -  $I_{\text{Na}}$  被阻断时间的 5 倍, 提示 R 神经细胞  $\text{Na}^+$  通道对 Cyh 敏感性降低。更主要的是 R -  $I_{\text{Na}}$  峰值在减小后有两次增大现象, 这一方面表明 R 与 S 神经细胞  $\text{Na}^+$  门控特性有差异, 另一方面提示有其它机制参与了 R 神经细胞对 Cyh 的解毒作用。因在杀虫剂浓度不变的情况下, 由于药剂刺激 (或结合) 而关闭了的通道重新打开是需要能量的。而 Cyh 作用后 R 及 S 神经细胞  $\text{Ca}^{2+}$  通道电流 I - V 曲线均左移 10 - 20 mV 的现象显示 Cyh 对  $\text{Ca}^{2+}$  通道也有作用。虽然 I - V 曲线左移现象出现时间较短 (1 min), 但由于  $\text{Ca}^{2+}$  本身为第二信使, 与细胞的多种生理功能有关, 因此钙通道门控特性的这种变化是杀虫剂的直接作用还是间接作用, 有待更加严密合理的实验去验证。不过至少可确定的是 Cyh 对棉铃虫神经细胞  $\text{Ca}^{2+}$  通道的门控过程也有影响, 抗性棉铃虫神经敏感性降低是 Cyh 对神经系统综合作用的结果。反过来, 包括  $\text{Ca}^{2+}$  在内的第二信使系统也参与了神经细胞对杀虫剂的解毒作用。当然这里也不能排除 R -  $I_{\text{Na}}$  增大是由于有新类型的  $\text{Na}^+$  通道受杀虫剂刺激而开放的可能, 但这需要进一步的证据。

### 参考文献:

- [1] 冯国蕾, 何凤琴, 袁家珪, 等. 棉铃虫对杀虫剂的抗性监测[J]. 动物学集刊, 1995, 12: 80 - 85.
- [2] 贺秉军, 陈家童, 郭世宜, 等. 抗性棉铃虫神经细胞的离体培养和超微结构分析[J]. 南开大学学报, 2001, 34(1): 30 - 36.
- [3] Lee D, Park Y, Brown TM, et al. Altered properties of neuronal sodium channels associated with genetic resistance to pyrethroids[J]. *Mol Pharmacol*, 1999, 55(3): 584 - 593.
- [4] 邹冈. 基础神经药理学[M]. 北京: 科学出版社, 第二版, 1999. 375 - 394.
- [5] Hirschberg B, Rovner A, Lieberman M, et al. Transfer of twelve charges is needed to open skeletal muscle  $\text{Na}^+$  channels[J]. *J Gen Physiol*, 1995, 106: 1053 - 1068.
- [6] Auld VJ, Goldin AL, Krafte DS, et al. A neutral amino acid change in segment II S4 dramatically alters the gating properties of the voltage dependent sodium

- channel[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, 87: 323-327.
- [7] Narahashi T. Neuronal ion channels as the target sites of insecticides[J]. *Pharmacol Toxicol*, 1996, 78: 1-14.
- [8] Osborne MP, Peper DR. Molecular mechanisms of insecticide resistance[Z], Ed. Mullen, CA. & Scott, JG. ACS Symposium, 1991. 71.
- [9] Rossignol DP. Analysis of pyrethroid binding by use of a photoreactive analogue: possible role for GPT-binding proteins in pyrethroid activity[J]. *Pest Biochem Biophysiol*, 1991, 41: 103-120.
- [10] 贺锡雯, 殷若元, 陈寅江, 等. 拟除虫菊酯对神经细胞  $\text{Na}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  离子通道的影响[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 1997, 15(5): 261-264.

## EFFECTS OF CYHALOTHRIN ON THE SODIUM AND CALCIUM CHANNELS IN CENTRAL NEURONS OF *Helicoverpa armigera*

HE Bing-jun<sup>1</sup>, LIU An-xi<sup>1</sup>, CHEN Jia-tong<sup>1</sup>, SUN Jin-sheng<sup>2</sup>, RUI Chang-hui<sup>3</sup>

(1. College of Life Science, Nankai University, Tianjin 300071, China;

2. Tianjin Fishery Institute, Tianjin 300221, China;

3. Institute of Plant Protection, CAAS, Beijing 100094, China)

**Abstract:** The properties of sodium currents of the central neurons isolated from the thoracic and abdominal ganglia of susceptible (S) and cyhalothrin-resistant (R) cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) were studied with the whole-cell patch clamp technique. The effects of cyhalothrin upon the sodium and calcium channels of S and R neurons were also analyzed. The results showed that the sodium channels of R neurons had altered gating properties. Voltage-dependent activation of S sodium channels began from -50 to -40 mV and reached peak value at approximately -20 mV. In contrast, R channels were activated at approximately -40 mV and reached peak around -10~0 mV. Thus, the voltage-dependent activation and inactivation potential of sodium channels of R neurons was shifted approximately 10 mV in the positive direction. Consistent with these changes in gating behavior, R central neurons were less sensitive to the cyhalothrin, as evidenced by the blocking time. The sodium currents of S neurons were entirely suppressed by  $1.0 \times 10^{-7}$  mmol · L<sup>-1</sup> cyhalothrin within 20 min, while it required more than 90 min to block the R currents. The current-voltage relationships for the sodium channels of S and R neurons shifted towards more negative potentials (10 mV or more) in 5 min when the cyhalothrin was added to the external solution. Further, the value of R currents varied several times during recording, which indicated that there were other mechanisms involved in the detoxification. The current-voltage relationships for the calcium channels of S and R neurons was shifted 10~20 mV in the negative direction after the action of cyhalothrin, indicating that the cyhalothrin can also affect the gating behavior of calcium channels. Taken together, the results suggest that the cyhalothrin can affect the gating behavior of both sodium and calcium channels of S and R neurons. The sodium channels of R have altered properties, and are less sensitive to cyhalothrin. This is related to the nervous system insensitivity.

**Key Words:** *Helicoverpa armigera*; Sodium channel; Calcium channel; Cyhalothrin; Patch clamp