

# 粘虫中毒后体内酯酶同工酶活力变化的研究

王 峰<sup>1</sup>, 廉振民<sup>2</sup>

(1. 山西医科大学 生物医学教研室, 山西 太原 030001; 2. 延安大学 生命科学学院, 陕西 延安 716000)

**摘要:**利用聚丙烯酰胺凝胶电泳技术(PAGE),研究了试虫中毒后不同阶段体内酯酶同工酶的变化情况。两种杀虫剂对粘虫体内酯酶同工酶影响的研究表明,中毒试虫体内酯酶同工酶不同程度地被抑制,个别酶带消失,也有新带的出现,在抑制酯酶的程度,有机磷类高于氨基甲酸酯类。认为试虫中毒后不同时期体内酯酶同工酶的变化并无一定规律可循。

**关键词:**粘虫;酯酶同工酶;毒理

**中图分类号:**Q965.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-274X(2003)06-705-03

酯酶同工酶(esterase isozymes)是生物体内存在最为广泛的一种酶,由于酯酶同工酶的重要性远大于其他酶类,因此对其研究十分普遍。本文利用电泳技术研究杀虫剂对酯酶同工酶的抑制作用,以便探讨杀虫剂致毒机理,研究酯酶与昆虫抗药性的关系。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 供试昆虫 为室内以麦苗或玉米苗饲养的粘虫,根据实验要求挑选五龄中期、个体大小基本一致的幼虫供试。

1.1.2 供试药剂 有机磷类:马拉硫磷,辛硫磷;氨基甲酸酯类:呋喃丹。

### 1.2 方法

电泳采用垂直板型聚丙烯酰胺凝胶电泳(Vertical slab PAGE)法进行<sup>[1~3]</sup>。

1.2.1 样品制备 挑选五龄中期、个体大小基本一致的试虫,饥饿4h后处理,采用具有明显触杀作用的有机磷类、氨基甲酸酯类药剂。采用点滴法,用0.849 μL点滴器将药液点滴于试验虫前胸背板上。

试虫受药后一定时间开始进入兴奋期,到处乱爬,虫体不断扭动,其间伴随有口吐胃液现象,后兴奋性渐渐下降,虫体爬行不稳,转为抽搐、痉挛状态,

慢慢进入昏迷、麻痹期,虫体瘫软,最终皱缩死亡<sup>[4]</sup>。根据这两类药剂的作用特点,即中毒试虫可分为兴奋期、痉挛期、麻痹期和死亡期4个阶段,且分界明显。取前3个阶段中毒试虫各5头冷冻,对照用同剂量丙酮处理,每5头处理试虫作为一个样。每样加0.8 mL 20%蔗糖提取液,加少许石英砂后,于冰浴预冷的研钵中迅速磨碎后倒入5 mL 尖底离心管,暂置冰箱冷藏。6 000 r/min离心10 min,贮于4℃下待用。点样时吸取其上清液。

1.2.2 电泳 采用夹心式垂直板电泳槽JC-A(北京六一仪器厂)(胶模规格为120 mm×100 mm×1 mm)。全过程在冰箱中进行,需4h左右。后进行酶谱记录、照像和胶板保存,绘制酶谱模式图<sup>[5~7]</sup>。

## 2 结果与分析

试验结果见图1~3。

1) 试虫经马拉硫磷处理后,酶带数无显著变化,部分主带被抑制甚至消失,次带亦有一定程度的抑制,中毒试虫出现的一次带E4,可能是新被激活的酶带,亦可能是从E5中分离出的次带。昏迷期的试虫出现了部分酶带活性恢复的现象,原因有待于进一步探讨。中毒试虫的3个阶段酯酶酶谱无显著差别,部分酶带活性减弱直至消失,部分酶带活性又

收稿日期:2002-09-10

基金项目:陕西省科技攻关资助项目(2002-705)

作者简介:王 峰(1973-),女,山西太原人,山西医科大学助教,硕士,从事粘虫学研究。

重新增强。

2) 辛硫磷处理的试虫酶谱差异较显著, 3 个不同中毒阶段的酶亦不同, 酶带数逐渐减少, 表示抑制作用逐渐增强, 这与试虫中毒症状相对应<sup>[8]</sup>。同是有机磷类杀虫剂, 抑制结果不相同, 可能与试虫的选择有关。试虫中毒后的不同阶段, 是人为判定的, 且兴

奋期的判别较困难(兴奋症状不太明显), 而昏迷期的判定也不尽一致, 因而酶谱有所不同。另外, 因杀虫剂浓度的不同, 对酯酶同工酶亦可能有影响, 可能有其他原因, 有待于进一步研究。

3) 呋喃丹处理过的试虫, 酶谱无显著变化, 只是部分酶带有一定程度的抑制。

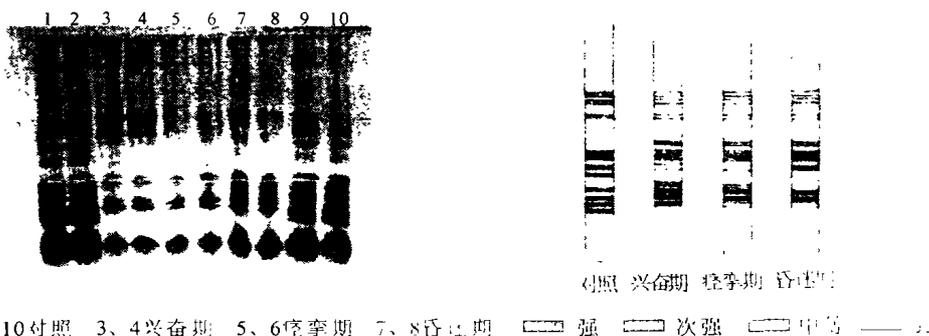


图 1 粘虫五龄幼虫经马拉硫磷处理后不同中毒阶段 EST 同工酶酶谱及模式图

Fig. 1 The zymogram of EST isozym and its pattern in different poisonous stages after applying Malathion to 5th instar larva of *Mythimna separata*

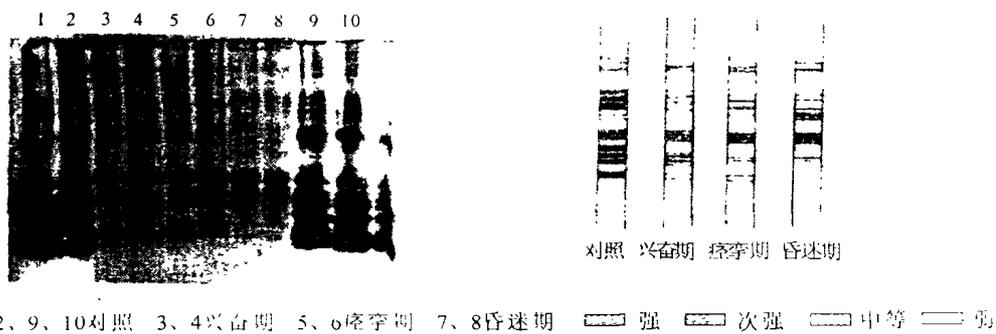


图 2 粘虫五龄幼虫经辛硫磷处理后不同中毒阶段 EST 同工酶酶谱及模式图

Fig. 2 The zymogram of EST isozym and its pattern in different poisonous stages after applying Phoxim to 5th instar larva of *Mythimna separata*

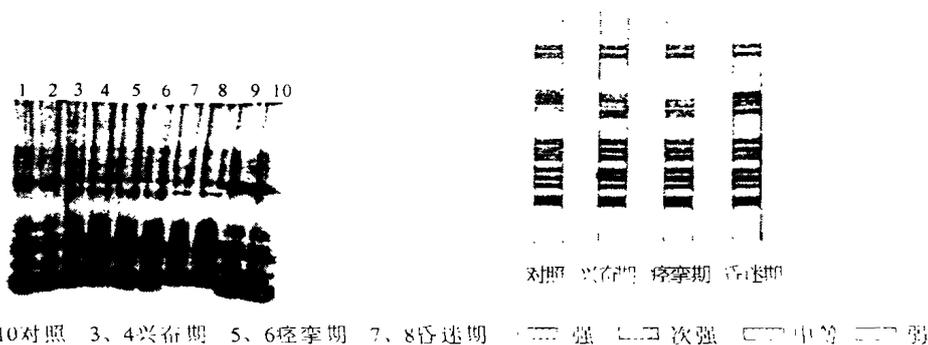


图 3 粘虫五龄幼虫经呋喃丹处理后不同中毒阶段 EST 同工酶酶谱及模式图

Fig. 3 The zymogram of EST isozym and its pattern in different poisonous stages after applying Carbofuran to 5th instar larva of *Mythimna separata*

### 3 小 结

3 种杀虫剂对粘虫体内酯酶同工酶的研究表明,中毒试虫体内部分酯酶被显著抑制,部分有一定程度的抑制,也有的酶带消失,部分酶带无显著变化。这进一步证实了有机磷类和氨基甲酸酯类杀虫剂的作用机理是抑制酯酶。在抑制酯酶的程度,有机磷类高于氨基甲酸酯类,说明有机磷类杀虫剂不但较氨基甲酸酯类杀虫剂作用迅速,且对酯酶抑制作用也较强。试虫中毒后,不同时期体内酯酶同工酶的变化无一定规律可循,除经辛硫磷处理的试虫随中毒症状的加深对酯酶的抑制程度亦加大外,其他经杀虫剂处理过试虫的酯酶同工酶活力与中毒程度之间无密切关系。

### 参考文献:

[1] 陈惠黎. 生物化学检验技术[M]. 北京:人民卫生出版社,1990.

- [2] 赵永芳. 生物化学技术原理及其应用. 第 2 版[M]. 武汉:武汉大学出版社,1994.
- [3] 胡能书,万贤国. 同工酶技术及应用[M]. 长沙:湖南科技出版社,1985.
- [4] 唐 莉. 杀虫药剂的致毒症状和机理的关系研究[D]. 西北农业大学植保系硕士研究生学位论文,1996.
- [5] 薛增召. 同工酶在昆虫研究中的应用及新发展[J]. 陕西农业科学,1995,(5):37-39.
- [6] 郭晓霞. 蝴蝶酯酶同工酶的系统学研究[D]. 陕西师范大学,2000.
- [7] 熊全沫. 同工酶电泳数据的分析及其在种群遗传上的应用[J]. 遗传,1986,8(1):1-5.
- [8] 吴文君. 植物化学保护实验技术导论[M]. 西安:陕西科学技术出版社,1987.

(编辑 徐象平)

## A study on the activities of the esterase isozyme in *Mythimna separata* walker of different poisonous periods

WANG Feng<sup>1</sup>, LIAN Zhen-min<sup>2</sup>

(1. Biomedicine Teaching and Reasearching Office, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China; 2. College of Life Science, Yan'an University, Yan'an 716000, China)

**Abstract:** The EST isozyme in it was analyzed by using the technique of vertical slab polyacry lamide gel electrophoresis. The EST isozyme in it was inhibited in different degrees. Through the study is made on the esterase zymograms of different poisonous periods after applying insecticides to the supplied insect, the EST isozyme in poisonous insect is inhibited in different degrees. Ops are higher than Carbs in the degree of inhibiting EST isozyme. There is not regular pattern on the changes of EST isozyme of different poisonous periods insect.

**Key words:** *Mythimna separata* Walker; esterase isozyme; toxicity machenism