

十四种杀虫剂对不同地区三带喙库蚊酯酶同工酶体外抑制的试验报告

中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所 杨 勋*

提要 本文应用等电聚焦电泳技术对采自我国福州、上海、青岛、大连和北京五个地区的三带喙库蚊自然群体进行了五种类型共十四种杀虫剂抑制酯酶同工酶的实验研究。结果表明,有机磷类杀虫剂对酯酶抑制作用最强,丙烯菊酯、残杀威、滴滴涕及狄氏剂的抑制效果较弱。三带喙库蚊雌性成蚊体内酯酶带共26条。

关键词 三带喙库蚊 酯酶 同工酶 等电聚焦

昆虫毒理学是应用杀虫剂防制害虫而兴起的一门学科。大多数杀虫药剂的主要毒杀机制是对酶的抑制作用。据报道,在利用电泳技术研究杀虫剂对酯酶同工酶的抑制作用以及探讨酯酶与昆虫抗药性关系方面目前甚为活跃^[1~3]。研究杀虫剂对昆虫酯酶抑制作用,对探索药物化学结构与生物活性的规律性,筛选新的杀虫药物,阐明昆虫产生抗药性机理等都具有重要意义。三带喙库蚊是乙型脑炎最重要的传播媒介之一,目前尚未见对该蚊的有关研究报道。现将本文研究结果报告如下。

材料和方法

一、实验蚊虫样品来源:采自福州、上海、青岛、大连和北京五地奶牛场的饱血三带喙库蚊,带回饲养室,饲养过程参照文献^[4]。以新羽化24小时以内的第一代雌性成蚊做为电泳样品,每30只为一个样品单位,匀浆制备参考文献^[5]。

二、等电聚焦电泳(IEF):实验系使用LKB-2197多用电泳仪,LKB-2209多点恒温水浴,LKB-2117水平电泳槽以及LKB两性电解质聚丙烯酰胺凝胶预制板等完成的。电泳条件、凝胶配制及电极液参照LKB公司方法^[6]。

三、酯酶同工酶等电点(PI)值测定:采用LKB标准两性电解质(pH3.5~9.5)聚丙烯酰胺凝胶预制板进行各地蚊虫株酯酶同工酶电

泳。染色后,利用pH3.5~9.5标准曲线对各同工酶带进行对应测量,以确定各带之PI值。然后将已确定PI值的各同工酶带与自制凝胶板电泳后所得各带对应起来,便可得到所有酯酶同工酶带的PI值。

四、酯酶鉴别与抑制:酯酶鉴别抑制试验及抑制剂和杀虫剂对酯酶抑制、酯酶染色方法参考文献^[5,7]。酯酶抑制程度分级:

- | | |
|----------|--------------|
| (1) - | 正常对照,酶带清晰。 |
| (2) + | 轻微被抑制,酶带较清晰。 |
| (3) ++ | 显著被抑制,酶带较模糊。 |
| (4) +++ | 严重被抑制,酶带很模糊。 |
| (5) ++++ | 完全被抑制,酶带消失。 |

五、杀虫剂的选择:见表1。

结 果

利用IEF方法对酯酶同工酶分析的结果表明,共有26条酯酶同工酶带,其PI值分布在3.85~7.27的范围内。北京、大连、青岛、上海、福州的自然群体分别有25、26、23、24、25条酶带,各群体酶带数无显著性差异。

以Miller等方法对三带喙库蚊酯酶的鉴别抑制试验结果表明,第1~3、5~8条酶带是乙酰酯酶,9~11为胆碱酯酶,12、13为芳族酯

* 现已调大连卫生检疫所

表1 本实验所选用杀虫剂

杀虫剂名称	提供单位
有机氯类	
10%滴滴涕(DDT)	世界卫生组织
99%林丹(Lindane)	世界卫生组织
5%狄氏剂(Dieldrin)	世界卫生组织
有机磷类	
10%马拉硫磷(Malathion)	世界卫生组织
96.5%杀螟松(Fenitrothion)	日本住友公司
95%敌百虫(Trichlorfon)	上海昆虫研究所
氨基甲酸酯类	
99%西维因(Carbaryl)	世界卫生组织
98%残杀威(Propoxur)	世界卫生组织
80%二恶威(Dioxacarb)	瑞士汽巴—嘉基公司
拟除虫菊酯类	
66.24%二氯苯醚菊酯(Permethrin)	江苏农药研究所
92.1%丙烯菊酯(Allethrin)	日本住友公司
93.1%膈苯醚菊酯(S-2703)	日本住友公司
复方混配类	
拜高(Baygon)	西德拜耳公司
诺毕速灭松(Neopynamin-Sumithion)	日本住友公司

酶, 14~16为羧酸酯酶。其余各带为其它酯酶^[8](表2)。

十四种杀虫剂对三带喙库蚊酯酶抑制结果表明, 同一种杀虫剂对不同自然群体的酯酶抑制效果差异极小。三种有机磷杀虫剂对所有酯酶带均有较强抑制作用。丙烯菊酯、残杀威、滴滴涕和狄氏剂抑制效果最差, 其它杀虫剂对酯酶带有选择性抑制作用。

讨 论

本文应用IEF电泳技术研究不同类型杀虫剂对三带喙库蚊酯酶抑制作用的结果, 反映了不同种类杀虫剂对酯酶抑制效果的差异。有机磷类杀虫剂对酯酶有强抑制作用, 这与理论相一致; 氨基甲酸酯类的抑制作用虽较明显, 但不如有机磷类, 说明这两类杀虫剂在抑制酯酶作用上程度有所不同。有机氯类和拟除虫菊酯类除丙烯菊酯外, 其它杀虫剂对酯酶都有不同程度的抑制作用, 说明它们除其主要毒理作用外还兼有抑制酯酶作用。各自然群体三带喙库

表2 不同抑制剂对三带喙库蚊各酯酶带抑制结果

等电点	毒扁豆碱	对羟基苯甲酸	氯化汞	热敏
7.27	—	—	—	+
7.16	—	—	—	+
7.05	—	—	—	+
7.02	+	+	+	+
6.39	—	—	—	+
6.20	—	—	—	+
6.13	—	—	—	+
6.05	—	—	—	+
5.96	+	—	+	—
5.85	+	—	+	—
5.70	+	—	+	—
5.60	—	+	+	—
5.46	—	+	+	—
5.23	—	+	+	+
5.15	—	+	+	+
4.88	—	+	+	+
4.77	+	+	+	+
4.63	+	+	+	+
4.53	+	+	+	+
4.46	+	+	+	+
4.42	+	+	+	+
4.26	+	+	+	+
4.22	+	+	+	+
4.10	+	+	+	+
3.99	+	+	+	+
3.85	+	+	+	+

+: 抑制 -: 不抑制

蚊酯酶对各种杀虫剂的敏感程度基本相同, 这是否由种特异属性所决定尚待进一步研究。

关于酯酶的分类与鉴定至今仍有争议, 众说不一^[1,3,7,8]。Pearse认为把脊椎动物酯酶的分类方法类推于无脊椎动物并不恰当^[9]。因此, Poehling等认为有必要对脊椎动物和无脊椎动物的酯酶分别进行分类^[10]。由于目前尚无对无脊椎动物酯酶分类的统一方法, 本文仅以Miller等方法作为对酯酶分类的参考, 结果也只是部分与脊椎动物酯酶分类相吻合。

对IEF电泳的等电点确定, 通常是在电泳结束时, 用凝胶表面复合pH电极进行测量,

然后得出一条等电点曲线。本实验所用测量方法在仪器不足情况下仍不失为一种较好方法, 因为用凝胶表面复合pH 电极测量的结果与标准曲线的误差仅为0.01~0.07之间^[5]。因此在精确性上可以得到保证。

Study on Inhibiting Effect of 14 Insecticides on Esterase of *Culex tritaeniorhynchus* from Five Geographic Populations Yang xun
Institute of Epidemiology and Microbiology, Beijing

Isoelectrofocusing technique was used to study the inhibiting effect of 14 insecticides on esterase isozymes of *Culex tritaeniorhynchus* from natural populations in Fuzhou, Shanghai, Qingdao, Dalian and Beijing areas. Among 14 insecticides, organophosphates were good inhibitors to all esterase isozymes, but Allethrin, Propoxur, DDT, Dieltrin had no or almost no inhibiting effect on esterase. 26 esterase isozyme bands of *Culex tritaeniorhynchus* were revealed by isoelectrofocusing.

Key words *Culex tritaeniorhynchus* Esterase Isozyme Isoelectrofocusing

参 考 文 献

1. 周厚安, 等. 不同类型化合物对酯酶的抑制, 动物学集刊 1985; 3: 15.
2. 姜家良, 等. 抗有机磷淡色库蚊羧酸酯酶的研究, 昆虫学研究集刊 1980; 1: 69.
3. 陈巧云, 等. 淡色库蚊对敌百虫抗性的研究——水解酶同敌百虫抗性关系, 昆虫学报 1980; 23(4): 350.
4. 张淑媛, 等. 三带喙库蚊实验室种群的建立及若干生活史的研究, 中华流行病学杂志 1983; 4(4): 215.
5. 叶炳辉, 等. 不同地理株中华按蚊同工酶和糖、脂、蛋白质的比较研究, 寄生虫学与寄生虫病杂志 1985; 3(3): 161.
6. Winter A, et al. Analytical electrofocusing in thin layers of polyacrylamide gels. LKB Application Note 250. 1977.
7. Miller S. A comparative study of esterases in the two strains of Anopheline mosquitoes by IEF. Int. J. Biochem. 1983; 15(2): 1409.
8. 武内忠男, 等. 新酶组织化学. 朱逢春主译, 人民卫生出版社, 1982.
9. Pearse AGE. Histochemistry Theoretical and Applied. 3rd Edition, Vol. 2, Churchill-Livingstone, Edinburgh, 1972.
10. Poeling HM, et al. Esterases and glycoproteins in the salivary glands of *An. stephensi*. Insect Biochem. 1980; 10: 189.

(本研究是在导师张淑媛副研究员指导下完成的)

41例流行性出血热家庭聚集现象的调查

山东省费县人民医院

徐大勇 时建华 蒋克芳

我院于1984年11月至85年12月间, 共收治流行性出血热(EHF)患者667例, 其中家庭聚集发病20户计60人(9%)。我们对其中15户41例住院病人及未发病家属、邻居47人进行了调查。

一、15户均为农民, 卫生条件普遍较差。其中13户居住于山区、丘陵地带, 且多数为向阳山坡; 两户居住平原地带。除1户居稻区外, 其余各村以种植小麦、地瓜、玉米、高粱等为主, 符合半丘陵水旱混合疫源地特点。发病前, 12人有野外居住史, 18人有皮肤粘膜破损史。聚集发病多为1村1户, 每户2~5例, 以成年男性略多于女性者多见。发病户均位于我县高发地带, 居住村村发病有连片现象。据调查, 我县鼠类野外以黑线姬鼠为主, 依次为背纹仓鼠、大仓鼠、褐家

鼠等。室内以小家鼠最多, 其次为黑线姬鼠、褐家鼠。全部病人作间接荧光抗体检查, 仅1例阴性, 余皆阳性, 抗体滴度范围为1:20~1:320。47例患者家属中, 阳性者5人(10.6%)。

二、发病时间集中于冬季, 患者具有EHF典型临床表现。其中轻型7例, 中型19例, 重型9例, 危重型6例。病程6~30天, 平均14天。治愈35例, 死亡6例。

三、特点: ①本文家庭聚集现象为野鼠型EHF所致(秋季高峰时已作血凝抑制试验); ②多居山区丘陵地带, 有明显边缘性、地理差别及季节性; ③家庭聚集发病户分布与高发地区相一致; ④病情普遍重、死亡率高; ⑤家庭隐性感染率高。