

文章编号: 1000-7423(2003)-02-0090-03

# 淡色库蚊 DDVP 抗性与酯酶活性的相关性

王新国 甄天民 谭文彬 王怀位 公茂庆 孙传红 赵玉强

**【摘要】** 目的 检测抗 DDVP 品系各世代的抗性指数及蚊体内酯酶(esterase)的活性,探讨蚊虫抗性与酯酶的关系。  
方法 生物测定法,微滴定板法。结果 淡色库蚊经过 43 代选育,抗性指数达 12.17 倍,蚊体内非特异性酯酶(nonspecific esterase, NSE)的活力随世代增加抗性增高而增强。OD $\geq$ 0.9 的个体频率逐渐增高,与生物测试法基本一致。乙酰胆碱酯酶(AChE)的平均抑制率随世代的增加、抗性增高而变低,而抑制率 $<$ 30%的个体频率随世代增加而增加,呈相关关系。结论 DDVP 抗性与酯酶 NSE 和 AChE 的活性呈一定的相关关系。

**【关键词】** 淡色库蚊; DDVP; 酯酶; 抗性

中图分类号: R384.112

文献标识码: A

## The Correlation between DDVP Resistance of *Culex pipiens pallens* and Esterase Activity

WANG Xin-guo, ZHEN Tian-min, TAN Wen-bin, WANG Huai-wei, GONG Mao-qing, SUN Chuan-hong, ZHAO Yu-qiang  
(Shandong Institute of Parasitic Diseases, Jining 272033)

**【Abstract】** Objective To detect the resistance index and esterase activity of each generation of DDVP-resistant *Culex* mosquitoes and analyze the relationship between insecticide resistance and esterase. Methods WHO bioassay and micro-plate measurement were used for the detection. Results The resistance index increased to 12.17 after 43 generations' insecticide selection compared to 1.00 as sensitive isolate. The nonspecific esterase(NSE) activity of the mosquitoes became strengthened with the extension of the generations, and the individual frequency of those with OD values no less than 0.9 increased gradually, consistent basically to the bioassay. The AChE average inhibition rate decreased with the extended generation and increased resistance, and the individual frequency of those with inhibition rate less than 30% became strengthened with the extension of generations, showing a positive correlation. Conclusion The activity of NSE and AChE shows a correlation with DDVP resistance.

**【Key words】** *Culex pipiens pallens*, DDVP, esterase, resistance

Supported by the Health Department of Shandong Province(No. 982030601)

淡色库蚊不仅骚扰人类,而且是班氏丝虫病的重要媒介之一。近年来的调查显示<sup>[1]</sup>,蚊虫对杀虫剂 DDVP 的抗性不断增高,不仅加剧了环境污染,而且也成为蚊虫防制的突出问题。研究表明<sup>[2]</sup>,蚊虫体内酯酶活力增加是蚊虫对有机磷杀虫剂产生抗药性的重要机制之一。为此,我们在室内用 DDVP 对淡色库蚊敏感品系进行了选育,并观察了其抗性发展与酯酶的关系,以期抗性治理提供参考数据。

### 材料与方 法

#### 1 供试蚊虫

敏感品系为在实验室饲养多年的淡色库蚊正常品系。抗 DDVP 品系为室内用 DDVP 逐代汰选的抗 DDVP 淡色库蚊。

#### 2 生物测试法

在实验室条件下,按照 WHO 生物测定法<sup>[3]</sup>测定了敏感品系对 DDVP 的敏感性。抗性品系的测定为隔代或隔数代测定其敏感性。用简化概率单位法计算出对杀虫剂的 LC<sub>50</sub>、回归方程及抗性系数。

#### 3 NSE 的测定

将单个蚊幼虫置于离心管内,加入 100  $\mu$ l PBS (pH 6.8),用玻棒制成匀浆,再加入 900  $\mu$ l 同样 PBS 液混匀,1 119 g 离心 10 min,取上清液作酶源。将 90  $\mu$ l 酶液加至 96 孔微量滴定板孔中,每孔再加 90  $\mu$ l  $\beta$ -NA 溶液(56 mg  $\beta$ -NA 溶于 10 ml 异丙醇和 90 ml pH 6.8 PBS),置 25  $^{\circ}$ C 条件下 10 min,每孔再加 90  $\mu$ l 坚固蓝 B 盐溶液(100 mg 坚固蓝 B 盐溶于 100 ml 蒸馏水),反应 5 min,即刻将微量滴定板置于 MB-III 型酶标仪上,读取 OD<sub>550</sub> 值。用 pH 6.8 PBS 作空白对照。

#### 4 AChE 的测定

基金项目:山东省卫生厅资助项目(No. 982030601)

作者单位:山东省寄生虫病防治研究所,济宁 272033



将单个成蚊放入离心管中,加入 100  $\mu$ l PBS 液 (pH 7.2) 碾碎混匀,1 119 g 离心 10 min,取上清液加入 900  $\mu$ l PBS 稀释待用。然后将 100  $\mu$ l 蚊虫混匀液滴入 96 孔微量滴定板孔中,每孔加碘化硫代乙酰胆碱 (acetylthiocholine iodide, ATCh) 液 (75 mg ATCh + 100 ml PBS) 100  $\mu$ l, 30  $^{\circ}$ C 条件下孵育 30 min,每孔再加 100  $\mu$ l 5,5'-二硫一双(2-硝基苯甲酸) [5,5'-dithio-bis(2-nitro benzoic acid), DTNB] 液 (13 mg DTNB + 100 ml PBS)。反应 5 min 后,在酶标仪上读取 OD<sub>410</sub> 值,用 PBS 作空白对照。测不敏感性 AChE 时,用不同剂量残杀威作抑制剂加入 AChE 液中进行测试。抑制剂的抑制率按下列公式计算。

$$\text{抑制率}(\%) = \frac{\text{抑制前 AChE 的 OD 值} - \text{抑制后 AChE 的 OD 值}}{\text{抑制前 AChE 的 OD 值}} \times 100\%$$

## 结 果

### 1 淡色库蚊用 DDVP 选育后的抗性发展

表 1 的结果显示,淡色库蚊经 43 代选育,LC<sub>50</sub> 从敏感品系的 0.0954 ppm 上升到 1.1607 ppm,抗性指

表 1 淡色库蚊 DDVP 抗性选育结果

Table 1 The DDVP resistance sift of *Culex pipiens pallens*

世代 Generation	LC <sub>50</sub> (ppm)	回归方程 Regressive equation	抗性指数(R/S) Resistance index
S	0.0954	Y=7.2198+2.1750X	1.00
3	0.2281	Y=8.7335+5.8757X	2.39
6	0.1736	Y=7.2512+6.1103X	1.82
7	0.1370	Y=9.3608+5.0518X	2.44
10	0.2650	Y=6.4662+2.5124X	2.78
13	0.3407	Y=6.7007+3.6372X	3.57
16	0.3740	Y=7.2081+5.1693X	3.92
19	0.4250	Y=7.6638+7.1675X	4.45
21	0.6249	Y=6.7297+6.0228X	6.55
25	0.7227	Y=5.4970+3.5243X	7.58
29	0.7990	Y=5.4779+4.4955X	8.38
43	1.1607	Y=4.6962+4.6937X	12.17

表 3 淡色库蚊抗 DDVP 品系各世代成蚊的 AChE 活性

Table 3 The AChE activity of DDVP-resistant adult *Culex pipiens pallens*

世 代 Generation	N Number	抑制前 OD 值 ( $\bar{X} \pm SD$ ) OD value before inhibition	抑制后 OD 值 ( $\bar{X} \pm SD$ ) OD value after inhibition	平均抑制率 (%) Average inhibition rate	抑制率 < 30% 个体频率 (%) Individual frequency with inhibition rate less than 30%
S	89	0.7082 $\pm$ 0.1269	0.4552 $\pm$ 0.1712	35.72	16.85
7	48	0.6865 $\pm$ 0.1044	0.4455 $\pm$ 0.1313	35.10	18.75
10	48	0.6728 $\pm$ 0.1212	0.4476 $\pm$ 0.0880	33.47	20.83
13	48	0.7029 $\pm$ 0.1523	0.4694 $\pm$ 0.1105	33.21	22.92
16	98	0.7745 $\pm$ 0.1301	0.5313 $\pm$ 0.1075	31.40	22.45
19	87	0.7753 $\pm$ 0.1532	0.5419 $\pm$ 0.1276	30.10	33.33
21	94	0.7483 $\pm$ 0.1021	0.5328 $\pm$ 0.1325	28.79	37.23
25	98	0.7886 $\pm$ 0.2390	0.5714 $\pm$ 0.1750	27.54	45.92
29	98	0.7934 $\pm$ 0.3201	0.5801 $\pm$ 0.2823	26.88	72.45
43	95	0.1870 $\pm$ 0.2519	0.6286 $\pm$ 0.2052	23.06	84.21

AChE 活性判断标准:抑制率 < 30% 为抗性个体  
Resistance was determined by an AChE activity inhibition rate < 30%

数达 12.17 倍。前 10 代抗性上升较为缓慢,在 2.78 倍以下波动。

### 2 淡色库蚊抗 DDVP 品系各世代 IV 龄幼虫 NSE 活性

表 2 的结果显示,NSE 活力在前 10 代 OD 值变化不大, $\geq 0.9$  的个体频率没有明显改变。第 10 代后 NSE 活力逐渐增加, $\geq 0.9$  的个体频率明显上升,与蚊虫抗性趋势呈相关关系。

表 2 淡色库蚊抗 DDVP 品系各世代 IV 龄幼虫的 NSE 活性

Table 2 The NSE activity of DDVP-resistant IV instar larvae

世代 Generation	N Number	OD 值( $\bar{X} \pm SD$ ) OD value	$\geq 0.9$ 的个体频率(%) Individual frequency with OD value $\geq 0.9$
S	112	0.8232 $\pm$ 0.1269	24.11
3	80	0.8795 $\pm$ 0.1313	23.70
6	50	0.8546 $\pm$ 0.1113	24.00
7	48	0.8632 $\pm$ 0.1211	24.83
10	60	0.8975 $\pm$ 0.1014	25.00
13	48	0.9021 $\pm$ 0.0012	58.33
16	48	0.9958 $\pm$ 0.2238	62.50
19	54	0.9875 $\pm$ 0.1987	70.37
21	48	1.1217 $\pm$ 0.2212	72.91
25	48	1.3421 $\pm$ 0.2862	81.25
29	50	1.3621 $\pm$ 0.2411	88.88
43	60	1.4784 $\pm$ 0.3826	93.33

NSE 活性判断标准:OD 值  $\geq 0.9$  为抗性个体  
OD value  $\geq 0.9$  was regarded as resistant individuals

### 3 淡色库蚊抗 DDVP 品系 AChE 活性

表 3 的结果显示,AChE 的活性随抗性选育世代的增加略有上升,平均抑制率随选育世代增加而变低,抑制率 < 30% 的个体频率则随选育世代增加、抗性上升而增加,与生物测试结果基本一致。

## 讨 论

蚊体内 NSE 是对杀虫剂解毒的重要水解酶之一<sup>[4]</sup>,在本实验中,蚊虫抗性随选育世代的增加而缓慢上升,NSE 的活性则随世代的增加而增强,OD 值



≥0.9 的个体频率明显增高。由此可见, NSE 在蚊虫对有机磷类杀虫剂的抗性中起着极其重要的作用。唐振华<sup>[5]</sup>和陈巧云等<sup>[6]</sup>分别报道淡色库蚊对马拉硫磷和敌百虫的抗性与羧酸酯酶的活力呈平行关系, 本实验亦基本一致。可见, 测定 NSE 可间接判断蚊虫对 DDVP 的抗性情况。AChE 敏感性降低是蚊虫对有机磷杀虫剂产生抗性的重要机制之一<sup>[7]</sup>。本实验中, 蚊虫的平均抑制率随世代对杀虫剂抗性的增加而降低, 抑制率 < 30% 的个体频率则逐渐增高, 与蚊虫抗性发展呈正相关关系。通过抗性选育及酯酶的测定, 可以了解蚊虫抗性发生发展的规律。了解抗性水平及抗性频率, 对于探讨蚊虫抗性机制及治理有一定参考价值。

### 参 考 文 献

[1] 刘凤梅, 甄天民, 赵玉强. 济宁市淡色库蚊抗药性发展趋势研究[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2000, 11: 30-31.

[2] Brogdon WG. Biochemical resistance detection: an alternative to bioassay[J]. Parasitol Today, 1989, 5: 56-57.

[3] WHO. Vector resistance to pesticides[R]. WHO Technical Report Series, No. 818, Geneva, 1992: 62.

[4] 苏寿沅, 叶炳辉主编. 现代医学昆虫学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1996: 170-173.

[5] 唐振华, 黎云根. 马拉硫磷和敌百虫混用和轮用的研究: 淡色库蚊的酯酶同工酶与抗性的关系[J]. 昆虫学报, 1985, 28: 135-136.

[6] 陈巧云. 淡色库蚊对敌百虫抗性的研究—水解酶同敌百虫抗性关系[J]. 昆虫学报, 1980, 23: 350-356.

[7] 李士根, 于建国, 甄天民. 蚊虫抗药性检测方法研究进展[J]. 中国寄生虫病防治杂志, 2001, 14: 233-234.

(收稿日期: 2002-06-26 编辑: 庄兆农)

文章编号: 1000-7423(2003)-02-0092-01

## 【消息】

# 中华预防医学会第五次全国医学寄生虫学术会议暨分会委员会、杂志编委会换届会议预备通知

各有关单位及论文作者:

根据中华预防医学会 2003 年重点学术活动计划安排, 我会拟于 2003 年 8 月 23~25 日召开中华预防医学会第五次全国医学寄生虫学术会议暨医学寄生虫分会委员会、杂志编委会换届会议, 现将有关事项通知如下:

### 一、会议内容

1. 学术交流: 近年来有关医学寄生虫学的应用研究及应用基础研究的成就和进展, 包括医学原虫学、医学蠕虫学、医学线虫学、医学昆虫学的病原生物学、免疫学、分子生物学、疫苗和新药研制、流行病学、诊断、临床、防治理论和实践等;

2. 中华预防医学会医学寄生虫分会委员会换届;

3. 《中国寄生虫学与寄生虫病杂志》编委会换届。

### 二、会议代表

1. 被录用论文的作者;

2. 中华预防医学会医学寄生虫分会第二届委员及被推荐的第三届委员;

3. 《中国寄生虫学与寄生虫病杂志》第三届编委及被推荐的第四届编委;

4. 中华预防医学会领导及有关专业机构负责人;

5. 特邀、列席代表等。

### 三、会议日期及地点

报到: 8 月 22 日 会议: 8 月 23~25 日 撤离: 8 月 26 日

地点: 上海

### 四、征文要求

1. 有较高的学术水平, 内容新颖, 尚未在公开发行的刊物

上发表;

2. 要求寄送 1000 字以内的论文摘要。论文摘要必须论点明确, 重点突出, 文字精练, 并规范使用名词术语、计量单位和标点符号;

3. 在题目和正文之间列出作者姓名、工作单位全称、城市名称及邮政编码。如作者分属不同单位, 须以序数列出;

4. 同时寄交文稿打印件(A4 纸)和磁盘, 或设附件发 E-mail: jsczz@sh163.net, 均需注明医学寄生虫学术会议征文。字体要求: 题目四黑, 作者名五楷, 正文五宋;

5. 摘要经审阅后将分别选出大会报告、分组报告和书面交流;

6. 被录用论文将编入会议论文摘要汇编;

7. 征文请寄: 上海市瑞金二路 207 号, 中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所 庄兆农, 邮编: 200025

传真: 021-64332670 电话: 021-64377008 × 1205;

8. 征文截止日期: 2003 年 6 月 30 日;

9. 因第五次全国医学寄生虫学术会议原定于 2002 年 11 月召开, 故凡 2002 年已寄交论文摘要的作者, 如对原寄交的论文摘要内容有所修改, 或原寄送的论文摘要规格不符上述规定者(将影响会议论文摘要汇编的收录), 请一律按本通知的有关要求另行寄送。

五、会议报到有关事项另行通知。

中华预防医学会

二〇〇三年四月十五日