

· 研究简报 ·

三种杀虫剂亚致死剂量对黄胸散白蚁工蚁体内 纤维素酶活性的影响

张时妙*, 莫建初, 杨天赐, 程家安

(浙江大学 城市昆虫学研究中心, 浙江 杭州 310029)

摘要: 采用工蚁与浸药滤纸接触或取食含药松木粉的方法, 测定了啶虫脒、氟戊菊酯和硼酸, 在亚致死剂量下对黄胸散白蚁 *Reticulitermes flaviceps* 工蚁体内内切- β -1, 4-葡聚糖酶(EG)和 β -葡萄糖苷酶(BG)活性的影响。结果表明, 用 0.5、1.0 和 2.0 mg/L 的啶虫脒处理黄胸散白蚁工蚁 6~48 h, 对其体内的 EG 和 BG 酶活性(处理 48 h 的除外)无显著影响; 用 0.5、1.0 和 2.0 mg/L 的氟戊菊酯处理, 可显著降低黄胸散白蚁工蚁体内的 EG 和 BG 酶活性; 硼酸对黄胸散白蚁工蚁体内 EG 和 BG 酶活性的影响与处理浓度和处理时间有关。

关键词: 黄胸散白蚁; 纤维素酶; 啶虫脒; 氟戊菊酯; 硼酸

中图分类号: S481.1

文献标识码: A

文章编号: 1008-7303(2004)02-0072-04

Influence of Sublethal Concentration of Acetam iprid, Fenvalerate and Boric Acid on the Cellulase Activity in the Worker Termites, *Reticulitermes flaviceps* (Isoptera: Rhinotermitidae)

ZHANG Shimiao*, MO Jianchu, YANG Tianci, CHENG Jia'an

(Urban Entomology Research Center, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract: Influence of sublethal concentrations of chemicals on the activities of endo-1, 4- β glucanase (EG) and β -glucosidase (BG) in the worker termites (*R. flaviceps*) was determined by the contact treatment with filter paper dipped acetam iprid or fenvalerate solution or the feeding treatment with pine wood powder mixed boric acid. The results indicated that 0.5, 1.0 and 2.0 mg/L of acetam iprid solution had no significant effects on the cellulase activity in the worker termites excepted of the β -glucosidase activity at 48 h after treatment of 1.0 mg/L concentration. The cellulase activity in the worker termites *R. flaviceps* could be inhibited significantly by the 0.5, 1.0 and 2.0 mg/L of fenvalerate solution. The effects of boric acid on the cellulase activity of *R. flaviceps* worker depended on the concentration of boric acid in food and the time of treatment.

Key words: *Reticulitermes flaviceps*; cellulase; acetam iprid; fenvalerate; boric acid

白蚁是一类重要的社会性昆虫, 其食源是木质纤维素类物质。在自然界, 它危害房屋建筑、土质堤

坝、交通运输设施和林木庄稼等。研究表明, 白蚁通过自身分泌或体内共生物分泌的纤维素酶来消化食

收稿日期: 2003-12-01; 修回日期: 2004-01-29

作者简介: 张时妙(1980-), 浙江浦江人, 硕士研究生, 主要从事昆虫毒理学与城市昆虫学方面的研究工作

* 联系电话/传真: 0571-86971695; E-mail: mojianchu@zju.edu.cn

基金项目: 国家教育部留学回国人员科研启动基金; 浙江大学留学回国人员科研启动基金资助项目

物中的纤维素, 满足自身生长发育需要^[1]。白蚁体内纤维素酶的主要成分是内切- β -1, 4-葡聚糖酶(endo-1, 4- β -glucanase, 简称EG)和 β -葡糖苷酶(β -glucosidase, 简称BG)。前者作用于纤维素链中部, 将纤维素降解成纤维二糖、纤维三糖和葡萄糖等化合物; 后者作用于纤维二糖或来自于非还原末端的纤维素长链, 将其水解成葡萄糖^[2]。

啶虫脒、氟戊菊酯和硼酸对白蚁的致死作用已有很多报道^[3~5]。然而, 用其防治白蚁时, 因驱避作用, 一些白蚁并未接触到致死剂量的药物便离开了药剂处理场所。这些接触亚致死剂量药物的白蚁, 其体内的纤维素酶活性是否会受到影响目前还不清楚。为此, 笔者以黄胸散白蚁*Reticulitermes flaviceps*为对象, 研究了啶虫脒、氟戊菊酯和硼酸3种药剂的亚致死剂量对白蚁体内纤维素酶活性的影响。

1 材料与方法

1.1 供试白蚁种类及来源

供试白蚁为黄胸散白蚁*R. flaviceps*, 2003年8~9月采自杭州市宝石山。

1.2 供试药剂

20%啶虫脒(acetamiprid)可溶性粉剂(MOSPILAN[®]) (日本曹达公司小田原研究所提供); 20%氟戊菊酯(fenvalerate)乳油(浙江庆丰农化有限公司生产); 硼酸(boric acid), 分析纯(纯度 $\geq 99.5\%$), (江苏太仓化工二厂生产)。

1.3 药剂处理方法

1.3.1 啶虫脒和氟戊菊酯处理 将一张 $\varnothing 9$ cm滤纸(双圈[®], 杭州新华纸业有限公司生产)铺在 $\varnothing 9$ cm的培养皿内, 用1 mL浓度为0.5、1.0和2.0 mg/L的啶虫脒溶液和氟戊菊酯溶液分别湿润滤纸。然后每皿放入100头黄胸散白蚁健康成熟工蚁, 依浓度分别处理500、1000和1500头。分别在0.25、0.5、1和2 d后, 取存活工蚁做酶活测定。对照工蚁饲以用等量蒸馏水处理的滤纸。

1.3.2 硼酸处理 将5 g过60目筛的细沙铺在 $\varnothing 9$ cm的培养皿内周边, 形成宽约2 cm的环形沙带, 并用蒸馏水将沙湿润。然后将过80目筛的硼酸粉与松木粉混合, 配成含硼酸的质量分数分别为1、5和50 g/kg的混合物。用牛角匙将0.5 g混合物放在培养皿中央, 再将100头黄胸散白蚁健康成熟工蚁放在沙带上。重复5次。1、5和10 d后, 取存活工蚁作酶活测定。对照工蚁饲以不含硼酸的松木粉。

1.4 酶液准备

每处理取90头工蚁, 分成3组分别称重, 放入1.5 mL离心管中。加1.5 mL 0.1 mol/L的醋酸钠缓冲液(pH 5.6), 在冰浴条件下充分研磨。在4、12 000 r/min条件下将研磨液离心10 min, 取上清液(即粗酶液)用于酶活测定。为避免酶失活, 粗酶液均保存于-30℃冰箱中(据报道, -30℃温度条件下, 酶可保存14 d以上^[6])。

1.5 酶活性测定方法

1.5.1 EG活性测定 以羧甲基纤维素钠(CMC-Na)为底物。取500 μ L用0.1 mol/L醋酸钠缓冲液(pH 5.6)配制的10 g/L底物溶液与50 μ L粗酶液充分混和, 在37℃水浴保温反应0.5 h, 用Somogyi-Nelson法测定水解产生的还原糖^[7]。在751-GD紫外分光光度计上, 测定波长660 nm下的吸光度值。对照以醋酸钠缓冲液(pH 5.6)代替酶液, 其余步骤相同。以pH 5.6、37℃条件下每小时产生1 μ mol还原糖的酶量为一个酶活力单位。

1.5.2 BG活性测定 以水杨素(salicin)为底物。取10 g/L底物溶液500 μ L, 在37℃预热1 min, 然后加入酶液20 μ L, 于37℃水浴中保温反应0.5 h, 用Somogyi-Nelson法测定水解产生的还原糖^[7]。其余方法与EG活性的测定相同。

2 结果与分析

2.1 啶虫脒对黄胸散白蚁工蚁体内EG和BG酶活性的影响

用啶虫脒3种亚致死剂量处理后, 黄胸散白蚁工蚁体内的EG和BG酶活性如表1。

由表1可见, 除啶虫脒1.0 mg/L处理48 h后的BG酶活性外, 各处理在不同时间的EG和BG酶活性与对照相比均无显著差异(5%显著水平)。说明亚致死剂量的啶虫脒处理对黄胸散白蚁工蚁体内的纤维素酶活性无显著影响。

2.2 氟戊菊酯对黄胸散白蚁工蚁体内EG和BG酶活性的影响

表2是氟戊菊酯0.5、1.0和2.0 mg/L浓度处理下, 不同时间黄胸散白蚁工蚁体内EG和BG酶的活性。结果表明各亚致死浓度的氟戊菊酯处理6~48 h后, 黄胸散白蚁工蚁体内的EG和BG酶活性均有不同程度的降低。EG酶活性方面, 除1.0 mg/L的氟戊菊酯处理24 h的无显著差异外, 其余处理组与对照组相比均达5%显著水平。BG酶

活性方面,除处理 12 h 的外,其余处理组酶活与对照组相比,其差异也均达到 5% 显著水平。说明 0.5、1.0 和 2.0 mg/L 的氰戊菊酯处理黄胸散白蚁工蚁一定时间,可显著抑制其体内的 EG 和 BG 酶活性。

Table 1 Activities of endo-1,4-β-glucanase (EG) and β-glucosidase (BG) in the worker termites (*R. flaviceps*) treated by three concentrations of acetamiprid solution or distilled water/μ · termite⁻¹

Enzyme	Treatment concentration /mg · L ⁻¹	Treatment time/h			
		6	12	24	48
EG	0	0.65 ± 0.06 a [*]	0.75 ± 0.12 a	0.60 ± 0.09 a	0.93 ± 0.10 a
	0.5	0.56 ± 0.08 a	0.76 ± 0.05 a	0.70 ± 0.07 a	0.84 ± 0.17 a
	1.0	0.55 ± 0.06 a	0.73 ± 0.10 a	0.54 ± 0.14 a	0.76 ± 0.09 a
	2.0	0.57 ± 0.04 a	0.76 ± 0.06 a	0.66 ± 0.03 a	0.68 ± 0.18 a
BG	0	0.55 ± 0.11 a	0.95 ± 0.06 a	0.36 ± 0.12 a	0.51 ± 0.11 a
	0.5	0.38 ± 0.10 a	0.81 ± 0.07 a	0.54 ± 0.16 a	0.43 ± 0.01 ab
	1.0	0.41 ± 0.10 a	0.85 ± 0.08 a	0.34 ± 0.14 a	0.27 ± 0.02 b
	2.0	0.55 ± 0.07 a	0.77 ± 0.06 a	0.54 ± 0.08 a	0.43 ± 0.09 ab

^{*}The data in the same column followed by the same letter are not significantly different ($p \leq 0.05$). The same as in the following tables

Table 2 Activities of EG and BG in the worker termites (*R. flaviceps*) treated by three concentrations of fenvalerate solution or distilled water/μ · termite⁻¹

Enzyme	Treatment concentration /mg · L ⁻¹	Treatment time/h			
		6	12	24	48
EG	0	0.69 ± 0.03 a	0.68 ± 0.05 a	0.64 ± 0.02 a	0.63 ± 0.06 a
	0.5	0.42 ± 0.01 b	0.44 ± 0.07 b	0.48 ± 0.01 b	0.36 ± 0.04 b
	1.0	0.52 ± 0.06 b	0.51 ± 0.01 b	0.56 ± 0.03 a	0.41 ± 0.09 b
	2.0	0.53 ± 0.09 b	0.48 ± 0.08 b	0.44 ± 0.05 b	0.46 ± 0.07 b
BG	0	0.74 ± 0.08 a	0.58 ± 0.13 a	0.60 ± 0.10 a	0.87 ± 0.07 a
	0.5	0.19 ± 0.04 b	0.29 ± 0.13 a	0.45 ± 0.03 b	0.39 ± 0.09 b
	1.0	0.38 ± 0.03 bc	0.35 ± 0.03 a	0.57 ± 0.02 a b	0.56 ± 0.08 b
	2.0	0.49 ± 0.15 c	0.44 ± 0.19 a	—	0.50 ± 0.03 b

2.3 硼酸对黄胸散白蚁工蚁体内 EG 和 BG 酶活性的影响

试验结果(表 3)表明,硼酸对黄胸散白蚁工蚁体内 EG 和 BG 酶活性的影响与处理浓度和处理时间有关。工蚁体内的 EG 酶活性,与对照组相比,1 g/kg 的硼酸处理在第 1 d、5 g/kg 的处理在第 5 d、50 g/kg 处理的则在第 10 d 达到显著差异水平(5% 水平)。说明低浓度硼酸毒饵对黄胸散白蚁工蚁体内 EG 酶活性的影响速度比高浓度毒饵的要快。这可能是因为高浓度硼酸毒饵对散白蚁有拒食作用,使得工蚁取食达到起作用的硼酸量需要更长的时间。BG 酶活性则仅在 1 g/kg 的硼酸处理下第 1 d

和第 10 d 与对照组之间达到显著差异水平(5% 水平)。另外,除 5 和 50 g/kg 处理组对 EG 酶活性具有随处理时间延长影响增大的规律外,其他处理组并未呈现相应的规律。为何会出现此类现象仍有待进一步研究。

3 结论与讨论

啮虫脒是氯化烟酰亚胺类新型高效杀虫剂^[8],是一种具有发展前途的新型白蚁防治药物^[3]。本研究结果表明,以 0.5、1.0 和 2.0 mg/L 的啮虫脒处理黄胸散白蚁工蚁,对工蚁体内的纤维素酶活性无显著影响。

Table 3 Activities of EG and BG in the worker tem ites (*R. flaviceps*) treated by three concentrations of the mixture of boric acid and pine wood powder or the pine wood powder/工 · tem ite⁻¹

Enzyme	Treatment concentration/g · kg ⁻¹	Treatment time/d		
		1	5	10
EG	0	0.83 ± 0.03 a *	0.86 ± 0.07 a	0.77 ± 0.01 a
	1	0.60 ± 0.05 b	0.78 ± 0.06 ab	0.58 ± 0.05 ab
	5	0.77 ± 0.11 ab	0.62 ± 0.10 b	0.56 ± 0.15 ab
	50	0.91 ± 0.07 a	0.66 ± 0.04 ab	0.49 ± 0.13 b
BG	0	1.05 ± 0.01 ab	0.86 ± 0.05 a	1.22 ± 0.38 a
	1	0.61 ± 0.11 b	0.95 ± 0.08 a	0.67 ± 0.08 b
	5	0.97 ± 0.13 ab	0.79 ± 0.02 a	0.94 ± 0.02 ab
	50	1.35 ± 0.31 a	0.85 ± 0.21 a	0.82 ± 0.17 ab

氰戊菊酯是一种拟除虫菊酯类杀虫剂, 由于它具有强烈的触杀作用和良好的驱避效果, 目前已被广泛用于建筑物白蚁的防治。用 0.5、1.0 和 2.0 mg/L 的氰戊菊酯处理黄胸散白蚁工蚁, 可显著抑制工蚁体内纤维素酶的活性。

硼酸是一种无机物类杀菌剂和杀白蚁剂。张方耀^[9]报道, 当硼酸的处理浓度大于 2 500 mg/L 时, 硼酸对白蚁取食有抑制作用; 处理浓度为 1 000 mg/L 时, 不抑制白蚁取食, 但可引起白蚁逐渐死亡。因为硼酸杀死了栖息在白蚁体内的原生动物^[10], 使其不再分泌纤维素酶, 导致白蚁因饥饿而死亡。用 1、5 和 50 g/kg 3 种硼酸毒饵饲喂黄胸散白蚁工蚁所获得的试验结果表明, 硼酸对黄胸散白蚁工蚁体内 EG 和 BG 酶活性的影响与处理浓度和处理时间有关。

参考文献:

[1] Nakashima K, Watanabe H, Saitoh H, et al. Dual cellulose-digesting system of the wood-feeding termite, *Coptotermes formosanus* Shiraki [J]. *Insect Biochem Mol Biol*, 2002, 32: 777-784

[2] Hogan M, Veivers P C, Slaytor M, et al. The site of cellulose breakdown in higher termites (*Nasutitermes walkeri* and *Nasutitermes exitiosus*) [J]. *J Insect Physiol*, 1988, 34: 891-899

[3] MO Jian-chu (莫建初), TENG Li (滕立), LU Wen-jun

(刘文军), et al. 测试条件对啮虫毒素柱防白蚁效果的影响[J]. *Chin J Pestic Sci* (农药学学报), 2003, 5(2): 53-58

[4] Forschler B T, Townsend M L. Mortality of eastern subterranean termites (Isoptera: Rhinotermitidae) exposed to four soils treated with termiticides [J]. *J Econ Entomol*, 1996, 89(3): 678-681

[5] Peters B C, Fitzgerald C J. Field exposure of borate-treated softwood to subterranean termites (Isoptera: Rhinotermitidae, Mastotermitidae) [J]. *Material and Organism*, 1998, 32(1): 41-66

[6] Retief L W, Hewitt P H. Digestive β -glycosidases of the harvester termite, *Odontotermes mossambicus*: Properties and distribution [J]. *J Insect Physiol*, 1973, 19: 1837-1847.

[7] Somogyi M. Notes on sugar determination [J]. *J Biol Chem*, 1952, 195: 19-23

[8] MO Jian-chu (莫建初), CHENG Jia-an (程家安). 新烟碱类杀虫剂抗药性研究进展[J]. *Acta Phytotaphylacica Sinica* (植物保护学报), 2003, 30(1): 91-96

[9] ZHANG Fang-yao (张方耀). 提供毒性最低的木树保护的硼酸盐[J]. *Termite Sci Technol* (白蚁科技), 1994, 11(2): 27-32

[10] Vama A, Kolli B K, Paul J, et al. Lignocellulose degradation by microorganisms from termite hills and termite guts: A survey on the present state of art[J]. *FEMS Microbiol Rev*, 1994, 15: 9-28

(责任编辑: 金淑惠)