

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica



第33卷 第4期 Vol.33 No.4 **2013**

中国生态学学会
中国科学院生态环境研究中心
科学出版社

主办
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

第 33 卷 第 4 期 2013 年 2 月 (半月刊)

目次

前沿理论与学科综述

- 森林水源涵养功能的多尺度内涵、过程及计量方法 王晓学,沈会涛,李叙勇,等 (1019)
- 植物叶片水稳定同位素研究进展 罗伦,余武生,万诗敏,等 (1031)
- 城市景观格局演变的生态环境效应研究进展 陈利顶,孙然好,刘海莲 (1042)
- 城市生物多样性分布格局研究进展 毛齐正,马克明,邬建国,等 (1051)
- 基于福祉视角的生态补偿研究 李惠梅,张安录 (1065)

个体与基础生态

- 土著菌根真菌和混生植物对羊草生长和磷营养的影响 雷垚,郝志鹏,陈保冬 (1071)
- 干旱条件下 AM 真菌对植物生长和土壤水稳定性团聚体的影响 叶佳舒,李涛,胡亚军,等 (1080)
- 转 *mapk* 双链 RNA 干扰表达载体黄瓜对根际土壤细菌多样性的影响 ... 陈国华,弭宝彬,李莹,等 (1091)
- 北京远郊区臭氧污染及其对敏感植物叶片的伤害 万五星,夏亚军,张红星,等 (1098)
- 茅苍术叶片可培养内生细菌多样性及其促生潜力 周佳宇,贾永,王宏伟,等 (1106)
- 低温对蝶蛹金小蜂卵成熟及其数量动态的影响 夏诗洋,孟玲,李保平 (1118)
- 六星黑点豹蠹蛾求偶行为与性信息素产生和释放的时辰节律 刘金龙,荆小院,杨美红,等 (1126)
- 氟化物对家蚕血液羧酸酯酶及全酯酶活性的影响 米智,阮成龙,李姣蓉,等 (1134)
- 不同温度对脊尾白虾胚胎发育与幼体变态存活的影响 梁俊平,李健,李吉涛,等 (1142)

种群、群落和生态系统

- 生态系统服务多样性与景观多功能性——从科学理念到综合评估 吕一河,马志敏,傅伯杰,等 (1153)
- 不同端元模型下湿地植被覆盖度的提取方法——以北京市野鸭湖湿地自然保护区为例 崔天翔,官兆宁,赵文吉,等 (1160)
- 基于光谱特征变量的湿地典型植物生态类型识别方法——以北京野鸭湖湿地为例 林川,官兆宁,赵文吉,等 (1172)
- 浮游植物群落对海南小水电建设的响应 林彰文,林生,顾继光,等 (1186)
- 菹草种群内外水质日变化 王锦旗,郑有飞,王国祥 (1195)
- 南方红壤区 3 种典型森林恢复方式对植物群落多样性的影响 王芸,欧阳志云,郑华,等 (1204)
- 人工油松林恢复过程中土壤理化性质及有机碳含量的变化特征 胡会峰,刘国华 (1212)
- 不同区域森林火灾对生态因子的响应及其概率模型 李晓炜,赵刚,于秀波,等 (1219)

景观、区域和全球生态

- 快速城市化地区景观生态安全时空演化过程分析——以东莞市为例 杨青生,乔纪纲,艾彬 (1230)
- 海岸带生态系统健康评价中能质和生物多样性的差异——以江苏海岸带为例 唐得昊,邹欣庆,刘兴健 (1240)
- 干湿交替频率对不同土壤 CO₂ 和 N₂O 释放的影响 欧阳扬,李叙勇 (1251)

西部地区低碳竞争力评价..... 金小琴,杜受祜 (1260)

基于 HEC-HMS 模型的八一水库流域洪水重现期研究 郑 鹏,林 韵,潘文斌,等 (1268)

基于修正的 Gash 模型模拟小兴安岭原始红松林降雨截留过程 柴汝杉,蔡体久,满秀玲,等 (1276)

长白山北坡不同林型内红松年表特征及其与气候因子的关系..... 陈 列,高露双,张 赞,等 (1285)

资源与产业生态

河西走廊绿洲灌区循环模式“农田-食用菌”生产系统氮素流动特征 李瑞琴,于安芬,赵有彪,等 (1292)

施肥对旱地花生主要土壤肥力指标及产量的影响..... 王才斌,郑亚萍,梁晓艳,等 (1300)

耕作措施对土壤水热特性和微生物生物量碳的影响..... 庞 绪,何文清,严昌荣,等 (1308)

基于改进 SPA 法的耕地占补平衡生态安全评价 施开放,刁承泰,孙秀锋,等 (1317)

学术争鸣

基于生态-产业共生关系的林业生态安全测度方法构想 张智光 (1326)

中国生态学会 2013 年学术年会征稿须知 (I)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 318 * zh * P * ¥90.00 * 1510 * 34 * 2013-02



封面图说: 石羊河——石羊河流域属大陆性温带干旱气候,气候特点是:日照充足、温差大、降水少、蒸发强、空气干燥。石羊河源出祁连山东段,河系以雨水补给为主,兼有冰雪融水成分。上游的祁连山区降水丰富,有雪山冰川和残留林木,是河流的水源补给地。中游流经河西走廊平地,形成武威和永昌等绿洲,下游是民勤,石羊河最后消失在腾格里沙漠中。随着石羊河流域人水矛盾的不断加剧,水资源开发利用严重过度,荒漠化日趋严重,民勤县的生态环境已经相当恶化,继续下去将有可能变成第二个“罗布泊”。

彩图及图说提供: 陈建伟教授 北京林业大学 E-mail: cites.chenjw@163.com

DOI: 10.5846/stxb201203230395

米智, 阮成龙, 李姣蓉, 付巧娟, 杜文华, 李冠楠, 隆耀航, 朱勇. 氟化物对家蚕血液羧酸酯酶及全酯酶活性的影响. 生态学报, 2013, 33(4): 1134-1141.

Mi Z, Ruan C L, Li J R, Fu Q J, Du W H, Li G N, Long Y H, Zhu Y. Influence of fluoride on activity of carboxylesterase and esterase in hemolymph of *Bombyx mori*. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(4): 1134-1141.

氟化物对家蚕血液羧酸酯酶及全酯酶活性的影响

米 智, 阮成龙, 李姣蓉, 付巧娟, 杜文华, 李冠楠, 隆耀航, 朱 勇*

(西南大学生物技术学院, 重庆 400716)

摘要: 为了探讨氟化物对家蚕代谢机制的影响, 以家蚕耐氟品种 T6 和氟化物敏感品种 734 为研究对象, 从 5 龄起蚕开始分别添食 50、100、200、400 mg/kg NaF 溶液浸泡后的新鲜桑叶, 检测家蚕血液中羧酸酯酶 (CarE), 全酯酶活性的变化。结果表明, 734、T6 添氟组的 CarE 活性分别是对照组的 73%—88% 和 72%—81%, 734 两个低浓度添氟组的 CarE 活性与对照组和两个高浓度添氟组的差异极显著 ($P < 0.01$), T6 各处理组之间的差异不显著。734、T6 添氟组的全酯酶活性分别是对照组的 89%—97% 和 73%—92%, 734 各处理组之间的差异不显著, T6 对照组的全酯酶活性仅与最高浓度添氟组差异极显著 ($P < 0.01$)。说明氟化物对家蚕血液 CarE 和全酯酶活性具有一定的抑制作用。

关键词: 家蚕; 氟化物; 血液; 羧酸酯酶; 全酯酶

Influence of fluoride on activity of carboxylesterase and esterase in hemolymph of *Bombyx mori*

MI Zhi, RUAN Chenglong, LI Jiaorong, FU Qiaojuan, DU Wenhua, LI Guannan, LONG Yaohang, ZHU Yong*

College of Biotechnology, Southwest University, Chongqing 400716, China

Abstract: We explored the metabolic mechanism of silkworm (*Bombyx mori*) to NaF by using the fluoride-tolerant silkworm variety named T6 and the fluoride-sensitive variety named 734 as materials. We fed the silkworm larvae from the first day of fifth instar with mulberry leaves soaked in 50, 100, 200 and 400 mg/kg NaF solutions respectively. Then we examined the activities of CarE and esterase in hemolymph. Results showed that the activity of CarE was 73% to 88% in 734 strain and 72% to 81% in T6 strain compared with control groups, respectively. The CarE activity of two low concentration NaF-treated 734 groups showed extremely significant differences ($P < 0.01$) with control group and two high concentration NaF-treated groups, while the differences among T6's all treatment groups were not significant. The esterase activity of NaF-treated groups was 89% to 97% in 734 strain and 73% to 92% in T6 strain compared with control groups, respectively. The esterase activity among all treatment groups in 734 strain show no significant differences. The esterase activity of the highest concentrations NaF-treated group showed extremely significant differences ($P < 0.01$) compared with control group. These results suggest that the fluoride has certain inhibition to the activity of CarE and esterase in hemolymph of silkworm.

Key Words: *Bombyx mori*; fluoride; hemolymph; carboxylesterase; esterase

近年来随着工农业的发展, 陶瓷、砖瓦、磷肥、炼铝、水泥、玻璃、火力发电和金属冶炼等部门排放以氟化

基金项目: 重庆市重大攻关项目 (CSTC, 2009AA1024)

收稿日期: 2012-03-23; 修订日期: 2012-11-19

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zhuy@swu.edu.cn

物为主的大气污染给蚕桑生产带来的危害越来越大。氟化物是一类原生质毒剂,研究表明,氟化物随桑叶进入蚕体累积于消化液、肠壁和体壁等处,通过消化管进入血液,在血液和组织中与蛋白质结合,抑制生长发育,出现氟中毒症状^[1]。氟中毒能损害中枢神经系统,内分泌系统及心、肝、肾等,并引起生物酶学改变和免疫功能改变^[2]。

酯酶是昆虫体内一种重要的代谢酶,属于水解酶,具有广泛的底物专一性。一方面杀虫剂对酯酶活性有抑制作用,另一方面酯酶可对某些杀虫剂进行代谢^[3-4]。羧酸酯酶(Carboxylesterase, CarE, EC3.1.1)是一种解毒水解酶。能够与进入昆虫体内的有机磷杀虫剂快速结合,将杀虫剂在到达靶标作用位点之前阻隔或降解,降低杀虫剂对昆虫的毒害,使昆虫产生抗性^[5-6]。CarE 能够催化酯类和酰胺类化合物水解,在神经递质的传递过程中起重要作用^[7]。在抗性昆虫中,CarE 活性的提高主要是由基因扩增使得表达量的增加(量变)或催化效率提高(质变)所引起的^[8-11]。传统方法主要通过单个基因的克隆、表达和突变分析等,来研究基因在抗性形成中的作用^[12-15]。

本试验通过研究家蚕添食 NaF 后血液中全酯酶和 CarE 的活性变化,为从生理生化水平上阐明家蚕对氟化物的代谢机制提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

家蚕耐氟品种 T6、敏感品种 734,由中国农业科学院蚕业研究所提供,西南大学生物技术学院家蚕遗传育种室保存。按照常规方法饲养到 5 龄起蚕时,对照组喂食清水浸泡 11 min 后自然晾干的新鲜桑叶,试验组分别用 50、100、200、400 mg/kg NaF 溶液浸泡 11 min 后自然晾干的桑叶饲养^[16],每隔 8 h 添食 1 次,每天添食 3 次。试验采用平行设计,每组设 3 个重复。从 5 龄起蚕第 1—7 天每天分别取各组幼虫的血液样品。

1.2 家蚕血液酶液的制备

将蚕体表用蒸馏水擦洗处理后,并用吸水纸擦干,使蚕体弯曲,用无菌剪刀剪其腹足让血液滴入放有少许苯基硫脲的预冷离心管中,在 0—4℃,5000r/min 离心 15min,取上清液用 0.04mol/L pH7.0 的 PBS 稀释 50 倍作为酶液,放置于-70℃冰箱内备用。

1.3 测定方法

1.3.1 羧酸酯酶标准曲线的制作

取 7 个干燥洁净的试管依次分别加入 1×10^{-4} mol/L α -萘酚 0、0.2、0.4、0.8、1.2、1.6、2.0 mL,对应加 0.04mol/L pH7.0 磷酸缓冲液 6.0、5.8、5.6、5.2、4.8、4.4、4.0mL,然后分别加入显色剂(1% 固蓝 B 盐(需避光保存)和 5% SDS 按 2:5 混合,现配现用)1mL,摇匀后 30℃ 水浴保温 30 min,在 600 nm 处测定 OD 值,重复 3 次,以 OD600 的平均值为纵坐标, α -萘酚的浓度为横坐标,绘制标准曲线。所得方程为: $y = 30.99x - 0.008$, $R^2 = 0.999$ 。

1.3.2 家蚕血液羧酸酯酶活性测定

参照 Van Aspern^[17]的方法适当修改后进行,每个样品重复测定 3 次。2500 μ L 3×10^{-4} mol/L 的 α -醋酸萘酯溶液(含 1×10^{-4} mol/L 毒扁豆碱)和 500 μ L 工作酶液(20 μ L 酶液和 480 μ L 0.04mol/L pH 7.0 PBS)混合,在 30℃ 水浴中反应 30min 后,加入 500 μ L 显色剂后,摇匀,静置 15min,待溶液变成稳定的蓝色后,用分光光度计在 600nm 处测 OD 值。根据 30min 内生成的 α -醋酸萘酚的毫摩尔数表示酶的活性(μ mol/mL α -萘酚)。

1.3.3 家蚕血液全酯酶活性测定

同羧酸酯酶测定方法^[17]基本一样,只是在 α -醋酸萘酯溶液中不加毒扁豆碱溶液。

1.4 数据统计

试验数据使用 Excel 软件对 CarE 和全酯酶活性做柱状图分析;运用 SPSS17.0 软件对 CarE 和全酯酶的活性采用 Duncan 方法进行多重比较,比较的显著水平为 $P = 0.01$ 。

2 结果与分析

2.1 氟化物对家蚕血液 CarE 活性的影响

2.1.1 相同暴露浓度下的时间效应关系

整体上来看,734、T6 各浓度 NaF 处理组的前 3d CarE 活性都很平稳,734 的 400mg/kg NaF 处理组在第 2 天酶活性上升的幅度较大,其余各浓度处理组在第 2 天稍有上升;T6 的 100mg/kg NaF 处理组在第 2 天呈上升趋势,其余各浓度处理组在第 2 天略呈下降趋势。在后 4d 内 734 各浓度 NaF 处理组的 CarE 活性变化范围较大,第 4 天的酶活性均高于前 3d 的,且对照组、100、400mg/kg NaF 处理组均出现了峰值;第 5 天的 50mg/kg NaF 处理组的酶活性仍上升,200mg/kg NaF 处理组的酶活性略呈下降趋势,其余各组下降幅度较大;最后 2d 内,对照组、200、400mg/kg NaF 处理组呈上升趋势,50mg/kg NaF 处理组在第 6 天下降,第 7 天上升,100mg/kg NaF 处理组呈平缓的下降趋势。T6 各处理组的 CarE 活性与 734 相比较平稳,对照组在第 6 天的 CarE 活性最高,达 $12\mu\text{mol/mL}$,其余时间段均小于 $8\mu\text{mol/mL}$;50mg/kg NaF 处理组在 4–6d 内呈下降趋势,第 7 天活性又上升;100mg/kg NaF 处理组在第 4 天活性最高,最后 3d 活性很平稳,约 $3\mu\text{mol/mL}$;200mg/kg NaF 处理组在 4–5d 的酶活性较平稳,在 6–7d 时酶活性上升,且达最大值;400mg/kg NaF 处理组在 4–7d 内 CarE 活性一直很平稳,在 $2\text{--}5\mu\text{mol/mL}$ 之间波动。

2.1.2 同一暴露时间内的浓度效应关系

添氟处理 1d 后,734 随着添氟浓度的增加,CarE 活性呈先降后升再降的变化趋势,而 T6 呈先降后升的趋势;添氟处理 2d 后,734 CarE 活性随着添氟浓度的增加呈先降后升的趋势,T6 的 100mg/kg NaF 处理组的活性稍高于其他处理组,其余各组的活性均很相近;添氟处理 3d 后,734 的 400mg/kg NaF 处理组的 CarE 活性显著低于其他处理组,其余各组的活性很平稳,T6 的 50mg/kg NaF 处理组低于其他各处理组;添氟处理 4d 后,734 各处理组的变化范围较大,呈“W”型,T6 的 2 个高浓度添氟组的酶活性低于其余 3 个处理组;添氟处理 5d 后,734 各处理组的变化仍很大,呈“M”型,且 50mg/kg NaF 处理组的酶活性最高,T6 添氟组的酶活性低于对照组,100mg/kg NaF 处理组的酶活性最低;添氟处理 6d 后,734 呈现先降后升再降的趋势,且 400mg/kg NaF 处理组的酶活性最低,T6 添氟组的酶活性显著低于对照组;添氟处理 7d 后,734 和 T6 添氟组的变化趋势基本一致,734 对照组的酶活性最高,而 T6 对照组的酶活性最低。

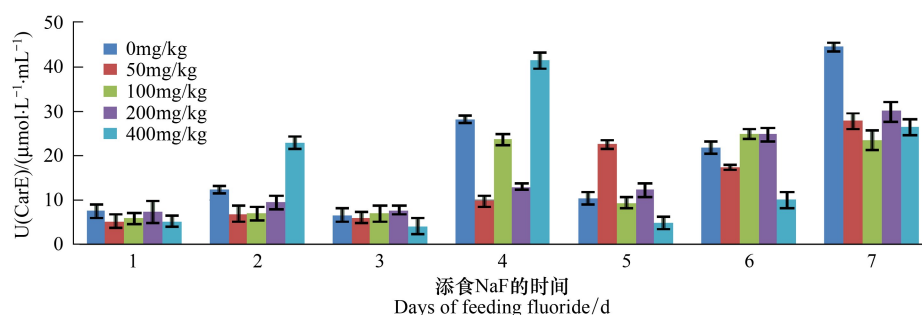


图1 734 的 5 龄幼虫添食 NaF 后血液 CarE 活性的变化

Fig. 1 Variations of CarE activity of hemolymph in 5th instar larvae of *Bombyx mori* 734 after treatment with NaF

2.2 添食氟化物对家蚕血液全酯酶活性的影响

2.2.1 相同暴露浓度下的时间效应关系

对照组中,734 全酯酶活性前 2d 呈下降趋势,后 5d 里酶活性变化很平稳略高于前 2d,T6 随添氟时间的增加酶活性呈上升趋势,且在第 4、7 天分别出现峰值;50mg/kg NaF 处理组,734 前 4d 呈先降后升的趋势,后 3d 酶活性呈平缓的下降趋势,T6 整体上呈上升趋势,在第 2、4、7 天出现峰值;100 mg/kg NaF 处理组,734 前 3d 呈平缓的下降趋势,后 4d 呈波浪式变化,T6 前 3d 全酯酶活性较相似,第 4 天出现一个上升的峰值,后 3d 呈上升的趋势;200 mg/kg NaF 处理组,734 在试验期酶活性基本相似,仅在第 1、4 天略高于其它时间点,T6 前

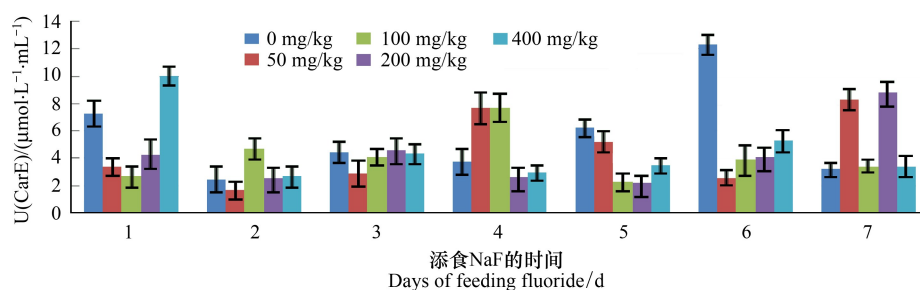


图2 T6 的 5 龄幼虫添食 NaF 后血液 CarE 活性的变化

Fig. 2 Variations of CarE activity of hemolymph in 5th instar larvae of *Bombyx mori* T6 after treatment with NaF

3d 酶活性很平稳,第 4 天酶活性稍升高,后 3d 酶活性呈上升趋势;400 mg/kg NaF 处理组,734 第 6 天全酯酶活性显著低于其他时间点,其余 6d 的酶活性在 62—64 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 之间波动,T6 的全酯酶整体上呈平稳的上升趋势。

2.2.2 同一暴露时间内的浓度效应关系

添氟处理 1d 后,734 的 50mg/kg NaF 处理组的酶活性最低,之后随着添氟浓度增加,酶活性升高,但 400 mg/kg NaF 处理组的酶活性低于 200 mg/kg NaF 处理组,T6 各浓度之间的酶活性几乎为一直线,50 mg/kg NaF 处理组略低于其它处理组,100 mg/kg NaF 处理组略高于其他组;添氟处理 2d 后,734 对照组和 50 mg/kg NaF 处理组的全酯酶活性呈下降趋势,之后随着浓度的增加酶活性增加,T6 各浓度的酶活性约为一直线,50 mg/kg NaF 处理组酶活性略高于其它组,200 mg/kg NaF 处理组略低于其它组;添氟处理 3d 后,734 全酯酶的变化趋势同处理 2d 后相似,T6 各处理组酶活性几乎仍是一直线,呈稍稍下降趋势;添氟处理 4d 后,734 对照组和两个低浓度组呈下降趋势,200 mg/kg NaF 处理组略上升,而 400 mg/kg NaF 处理组又下降,T6 对照组和两个低浓度的酶活性相当,但远大于两个高浓度处理组的活性;添氟处理 5d 后,734 的酶活性变化同处理 4d 后,T6 随着浓度的增加呈下降趋势;添氟处理 6d 后,734 对照组和两个低浓度处理组的酶活性变化较平稳,而两个高浓度组的酶活性呈骤降趋势,T6 全酯酶活性同添氟处理 5d 后的变化趋势;添氟处理 7d 后,734 全酯酶活性变化较平稳,几乎呈一直线,而 T6 对照组的酶活性最高,50、100 和 200mg/kg NaF 处理组酶活性很平稳,400mg/kg NaF 处理组酶活性骤降。

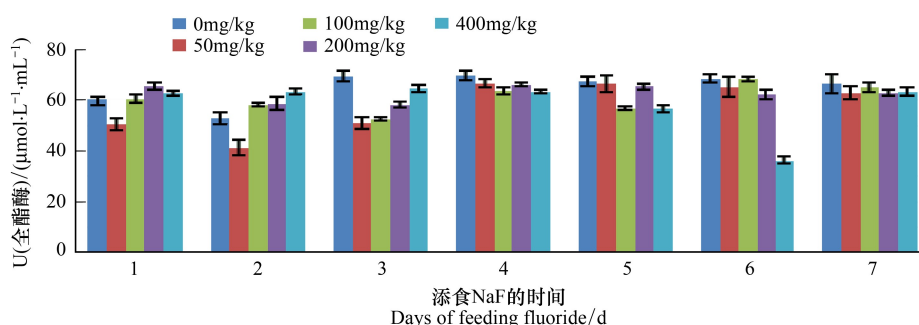


图3 734 的 5 龄幼虫添食 NaF 后血液全酯酶活性的变化

Fig. 3 Variations of esterase activity of hemolymph in 5th instar larvae of *Bombyx mori* 734 after treatment with NaF

2.3 不同浓度氟化物及氟化物处理后不同天数的 CarE 活性差异分析

734 的两个低浓度添氟组不仅和对照组而且与两个高浓度添氟组之间的差异均极显著,但对照组与高浓度添氟组之间的差异不显著;而 T6 各处理组之间的差异均不显著。2 品种间在各个添氟浓度下的差异极显著(表 1)。

734 的 CarE 活性在添氟后 4、6、7d 与其他时间点差异极显著,而且第 7 天与前 6d 的酶活性差异也极显

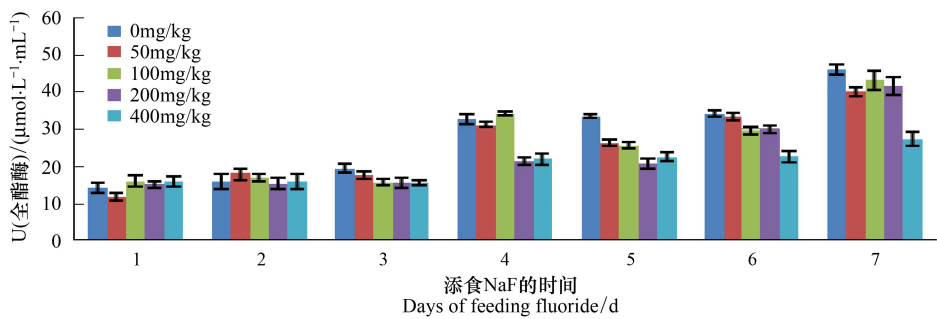


图4 T6 的 5 龄幼虫添食 NaF 后血液全酯酶活性的变化

Fig. 4 Variations of esterase activity of hemolymph in 5th instar larvae of *Bombyx mori* T6 after treatment with NaF

著,T6 在添氟处理后 7d 内的 CarE 活性差异均不显著。2 品种添氟后 1d 和 3d 差异不显著,其余各时间点差异极显著(表 2)。

表1 734 与 T6 添食不同浓度氟化物后 CarE 和全酯酶活性多重比较

Table 1 Multiple comparison on activity variations of CarE and esterase between 734 and T6 after treatment with different sodium fluoride

品种,添食 NaF 质量浓度/(mg/kg) The strain and concentration of NaF	CarE 活性差异显著性 Significant difference of CarE activity	全酯酶活性差异显著性 Significant difference of esterase activity
743,CK	C	C
T6, CK	A	B
743, 50	B	C
T6, 50	A	AB
743, 100	B	C
T6, 100	A	AB
743, 200	C	C
T6, 200	A	AB
743, 400	C	C
T6, 400	A	A

表中不同大写字母表示组间比较差异极显著($P<0.01$)

表2 734 与 T6 添食 NaF 后不同时间段 CarE 和全酯酶活性多重比较

Tabel 2 Multiple comparison on activity variations of CarE and esterase at different time between 734 and T6 after treatment with sodium fluoride

品种,添食 NaF 天数/d The strain and the days after treating with NaF	CarE 活性差异显著性 Significant difference of CarE activity	全酯酶活性差异显性 Significant difference of esterase activity
743,1	ABC	DE
T6, 1	ABC	A
743, 2	BC	D
T6, 2	A	A
743, 3	ABC	DE
T6, 3	A	A
743,4	D	E
T6, 4	AB	B
743, 5	C	E
T6, 5	A	B
743, 6	D	DE
T6,6	ABC	B
743, 7	E	E
T6, 7	ABC	C

2.4 不同浓度氟化物及氟化物处理后不同天数的全酯酶活性差异分析

734 各处理组之间的差异均不显著,T6 对照组与高浓度添氟组差异极显著,2 品种在同一添氟浓度间的差异极显著(表 1)。

734 在添氟后第 2 天与第 4、5、7 天差异极显著,T6 添氟分为 1—3d、4—6d 和 7d 三组,三组之间的差异极显著,组内差异不显著。2 品种在添氟处理后的各个时间段差异极显著(表 2)。

3 讨论

CarE 是多功能家族酶,普遍存在于动物、植物、昆虫和微生物中,并在异生物质(药物、杀虫剂、致癌物等)的解毒、信息素的降解、神经的发生和调控中扮演着重要角色^[18]。CarE 水解包含羧酸酯、酰胺和硫酯等官能团的化学物质,在药物代谢和杀虫剂解毒方面发挥着重要的作用^[19]。二斑叶螨(*Tetranychus urticae*)对杀螨剂的抗性通常与体内解毒酶^[20-22](酯酶、多功能氧化酶、谷胱甘肽 S-转移酶)的变化有关,也涉及靶标不敏感机制^[23]。Van Leeuwen 等^[24]测定了田间多抗二斑叶螨酯酶活性,发现抗性种群中的酶活性较敏感品系为高。Achaleke 等^[25]发现抗拟除虫菊酯的棉铃虫酯酶活性高于敏感品系。很多学者用不同昆虫实验同样得出了 CarE 活力与拟除虫菊酯和有机磷的抗性成正相关,分子生物学研究已经证实,酯酶活性的升高是由于酯酶结构基因的扩增^[26]。而本实验对家蚕进行添食 NaF,检测其血液中的 CarE 活性,得到了与其相反的结论,原因可能是氟化物和常用的有机杀虫剂在化学结构上有本质区别,杀虫剂进入昆虫体内后,抑制了靶酶正常的生理功能,或作用于神经轴突阻断了神经传导或产生毒素而导致昆虫死亡,而氟化物可能是酶的抑制剂,替换了酶活性位点中的某些离子,使酶活性下降。也可能与 CarE 表达和活性存在物种和组织特异性有关^[27]。734 在 1—3d 时,各处理组(400 mg/kg NaF 处理组除外)的 CarE 活性变化平稳,且添氟组的活性低于对照组,因为蚕体自身的免疫系统可以在短时间内抵抗毒物的危害,各种与解毒相关的酶在此期间发挥其相应的作用^[28],但在 4—7d 时,各个添氟处理组的 CarE 活性出现无规律大幅度的变化,尤其 400 mg/kg NaF 处理组,在整个实验期波动范围最大,高浓度 NaF 处理则能引发蚕体短时间中毒,进而导致蚕体代谢系统紊乱,氟可能以间接的方式,在高剂量下扰乱酶系统已被报道^[29]。734 的两个低浓度添氟组的活性不仅和对照组而且与两个高浓度添氟组之间的差异均极显著($P<0.01$)。T6 各处理组酶活性差异不显著。

酯酶是昆虫体内一种重要的解毒酶系,它可以通过水解酯类毒性化合物的酯键,或与亲脂类有毒化合物结合,降低其有效浓度来降低有毒化合物的毒性。因此,酯酶在昆虫对这几类杀虫剂的抗性中起着重要的作用^[30-31]。T6 和 734 添食 NaF 后全酯酶的平均活性都表现出下降的趋势,说明 NaF 对家蚕血液全酯酶的活性也起到抑制作用。734 的 50 mg/kg 添氟组在 1—3d 的酶活性处于最低,推测可能是低浓度的 NaF 在短期内对敏感品种家蚕全酯酶的抑制作用很大,而高浓度 NaF 使蚕体及早进入各项防御应激措施,避免受到严重损害。T6 两个高浓度添氟组在 2—7d 内的全酯酶活性一直低于其他处理组,在 6—7d 最高浓度添氟组的全酯酶活性远低于其他处理组,长时间添食高浓度的氟化物,会严重抑制蚕体全酯酶的活性,影响蚕体正常生长发育,甚至死亡。整体上 T6 各处理组的全酯酶活性在 4—7d 的活性要高于前 3d 的活性,随着时间的增加,蚕体要为进入化蛹阶段做准备,故要提高各种解毒酶的活性或增加各种解毒酶的量来作用氟化物。T6 与 734 两品种的全酯酶在相同时间点活性差异均极显著($P<0.01$)。

本实验结果表明,不论是 CarE 还是全酯酶,734 的酶活性要大于 T6,可能是敏感品种在 NaF 作用下,蚕体需要大量的解毒酶或提高相关酶活性来代谢或作用于 NaF,而耐氟品种其蚕体本身对 NaF 的代谢或抵抗能力很强,故其酶活性低于敏感品种,推测家蚕血液中的 CarE 和全酯酶活性与蚕体的耐氟性能有一定的相关性,但这 2 种酶在家蚕对氟化物代谢过程中的作用机制,有待进一步研究。

致谢:感谢西南大学生物技术学院朱勇教授对实验的指导。

References:

- [1] Huang J T, Zhu W M, Xia J G, Xiang Z H. Complete Work of Sericultural Technology in China. Chengdu: Sichuan Publishing House of Science & Technology, 1996: 462-467.

- [2] Zhang P. Research Progress on Fluorine of the Hereditary Toxicity. livestock and poultry industry, 2009, 238(2): 42-44.
- [3] Ownsu E O, Horiike M, Hirano C. Polyacrylamide Gel Electrophoretic Assessments of Esterases in Cotton Aphid (Homoptera: Aphididae) Resistance to Dichlorvos. Journal of Economic Entomology, 1996, 89(2):302-306.
- [4] Ownsu E O, Horiike M, Hirano C. Inhibition by insecticides of partially purified Carboxylesterases from *Aphis gossypii*(Homoptera: Aphididae). Journal of Economic Entomology, 1996, 89(2):307-310.
- [5] Gopalan N, Bhattacharya B K, Prakash S, Rao K M. Characterization of Carboxylesterases from Malathion-Resistant *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) Mosquitoes. Pesticide Biochemistry and Physiology, 1997, 57(2):99-108.
- [6] Karunaratne S H, Jayawardena K G, Hemingway J, Ketterman A J. The function of esterases in insecticide resistance in *Culex quinquefasciatus* mosquitoes from Sri Lanka. Biochemical Society Transactions, 1993, 21(4):482S.
- [7] Li X C, Schuler M A, Berenbaum M R. Molecular Mechanisms of Metabolic Resistance to Synthetic and Natural Xenobiotics. Annual Review of Entomology, 2007, 52:231-253.
- [8] Huang J, Qiao C L. Mechanism and Application of Insect Detoxification Enzymes in Bioremediation of Pesticide Contamination. Agro-environmental Protection, 2002, 21(3):285-287.
- [9] Hemingway J. The molecular basis of two contrasting metabolic mechanisms of insecticide resistance. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2000, 30(11): 1009-1015.
- [10] Vaughan A, Hemingway J. Cloning and sequence of the full-length cDNA for a major insecticide resistance gene worldwide in the mosquito *Culex quinquefasciatus*. Journal of Biological Chemistry, 1995, 270(28):17044-17049.
- [11] Vaughan A, Hawkes N, Hemingway J. Co-amplification explains linkage disequilibrium of two mosquito esterase genes in insecticide resistant *Culex quinquefasciatus*. Biochemical Journal, 1997, 325(Pt2):359-365.
- [12] Zhang L, Shi J, Shi X Y, Liang P, Gao J P, Gao X W. Quantitative and qualitative changes of the carboxylesterase associated with beta-cypermethrin resistance in the housefly, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). Comparative Biochemistry and Physiology B- Biochemistry & Molecular Biology, 2010, 56(1):6-11.
- [13] Khajuria C, Buschman L L, Chen M S, Siegfried B D, Zhu K Y. Identification of a novel aminopeptidase P-like gene(*OnAPP*) possibly involved in Bt toxicity and resistance in a major corn pest (*Ostrinia nubilalis*). PLoS One, 2011, 6(8):e23983.
- [14] Yu X L, Wang M, Kang M J, Liu L, Guo X Q, Xu B H. Molecular cloning and characterization of two nicotinic acetylcholine receptor beta subunit genes from *Apis cerana cerana*. Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 2011, 77(4):163-178.
- [15] Karatolos N, Williamson M S, Denholm I, Gorman K, Ffrench-Constant R H, Bass C. Over-expression of a cytochrome P450 is associated with resistance to pyriproxyfen in the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum*. PLoS One, 2012, 7(2): e31077.
- [16] Huang L L, Wei B Y, Meng Y Y. Experiment about soaking time of sodium fluoride solution on concentration changes of mulberry leaf containing fluoride. Guangxi Sericulture, 2005, 42(4):5-7.
- [17] Van Asperen K. A study of housefly esterases by means of a sensitive colorimetric method. Journal of Insect Physiology, 1962, 8(4):401-416.
- [18] Yu Q Y, Lu C, Li W L, Xiang Z H, Zhang Z. Annotation and expression of carboxylesterases in the silkworm, *Bombyx mori*. BMC Genomics, 2009, 10(1):553.
- [19] Yang D F, Pearce R E, Wang X L, Gaedigk R, Wan Y J Y, Yan B F. Human carboxylesterases HCE1 and HCE2: ontogenic expression, inter-individual variability and differential hydrolysis of oseltamivir, aspirin, deltamethrin and permethrin. Biochemical Pharmacology, 2009, 77(2): 238-247.
- [20] Tsagkarakou A, Pasteur N, Cuany A, Chevillon C, Navajas M. Mechanisms of resistance to organophosphates in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) from Greece. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2002, 32(4): 417-424.
- [21] Ay R, Yorulmaz S. Inheritance and detoxification enzyme levels in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) strain selected with chlorpyrifos. Journal of Pest Science, 2010, 83(2): 85-93.
- [22] Ay R, Kara F E. Toxicity, inheritance of fenpyroximate resistance, and detoxification-enzyme levels in a laboratory-selected fenpyroximate-resistant strain of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Crop Protection, 2011, 30(6): 605-610.
- [23] Kwon D H, Clark J M, Lee S H. Cloning of a sodium channel gene and identification of mutations putatively associated with fenprothrin resistance in *Tetranychus urticae*. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2010, 97(2): 93-100.
- [24] Van Leeuwen T, Tirry L. Esterase-mediated Bifenthrin Resistance in a Multiresistant Strain of the two-spotted Spider Mite, *Tetranychus urticae*. Pest Management Science, 2007, 63(2):150-156.
- [25] Achaleke J, Martin T, Ghogomu R T, Vaissayre M, Brevault T. Esterase-mediated Resistance to Pyrethroids in Field Populations of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) from Central Africa. Pest Management Science, 2009, 65(10):1147-1154.
- [26] Zhai Q H. Some aspects of progress in insect molecular biology: Molecular mechanisms of insecticide resistance. Acta entomologica sinica. 1995,

38(4):493-501.

- [27] Imai T. Human carboxylesterase isozymes: catalytic properties and rational drug design. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 2006, 21(3): 173-185.
- [28] Mi Z, Ruan C L, Li G N, Du W H, Long Y H, Zhu Y. Activity Variations of NADPH Cytochrome P450 Reductase and NADPH Cytochrome C Reductase in Midgut of Fluoride Poisoned *Bombyx mori*. *Science of Sericulture*, 2012, 38(1):0102-0108.
- [29] Liu Y Q. Mutagenicity of fluoride. *Foreign Medical Sciences:Section of Medgeography*, 1996, 17(2):58-60.
- [30] Zhang L, Gao X W, Liang P, Beta-cypermethrin resistance associated with high carboxylesterase activities in a strain of house fly, *Musca domestica* (Diptera:Muscidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2007, 89(1):65-72.
- [31] Holmes R S, Cox L A, Vandeberg J L. Mammalian Carboxylesterase 5: comparative Biochemistry and Genomics. *Comparative Biochemistry and Physiology D-Genomics & Proteomics*, 2008, 3(3): 195-204.

参考文献:

- [1] 黄君霆, 朱万民, 夏建国, 向仲怀. 中国蚕丝大全. 成都:四川科学技术出版社,1996: 462-467.
- [2] 张平. 氟化物遗传毒性的研究进展. 畜禽业, 2009, 238(2): 42-44.
- [8] 黄菁, 乔传令. 昆虫解毒酶解毒机理及其在农药污染治理中的应用. 农业环境科学学报, 2002, 21(3): 285-287.
- [16] 黄玲莉, 韦博尤, 蒙艺英. 氟化钠溶液浸泡时间对桑叶含氟浓度变化的试验. 广西蚕业, 2005, 42(4), 5-7.
- [26] 翟启慧. 昆虫分子生物学的一些进展: 杀虫剂抗性的分子基础. 昆虫学报, 1995, 38(4):493-501.
- [28] 米智, 阮成龙, 李冠楠, 杜文华, 隆耀航, 朱勇. 家蚕氟中毒后中肠 NADPH-细胞色素 P450 还原酶和 NADPH-细胞色素 C 还原酶活性的变化. 蚕业科学, 2012, 38(1):0102-0108
- [29] 刘雨清. 氟化物的诱变性. 国外医学(医学地理分册), 1996, 17(2):58-60.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol. 33, No. 4 February, 2013 (Semimonthly)

CONTENTS

Frontiers and Comprehensive Review

- Concepts, processes and quantification methods of the forest water conservation at the multiple scales WANG Xiaoxue, SHEN Huitao, LI Xuyong, et al (1019)
- Advances in the study of stable isotope composition of leaf water in plants LUO Lun, YU Wusheng, WAN Shimin, et al (1031)
- Eco-environmental effects of urban landscape pattern changes: progresses, problems, and perspectives CHEN Liding, SUN Ranhao, LIU Hailian (1042)
- An overview of advances in distributional pattern of urban biodiversity MAO Qizheng, MA Keming, WU Jianguo, et al (1051)
- Ecological compensation boosted ecological protection and human well-being improvement LI Huimei, ZHANG Anlu (1065)

Autecology & Fundamentals

- Effects of indigenous AM fungi and neighboring plants on the growth and phosphorus nutrition of *Leymus chinensis* LEI Yao, HAO Zhipeng, CHEN Baodong (1071)
- Influences of AM fungi on plant growth and water-stable soil aggregates under drought stresses YE Jiashu, LI Tao, HU Yajun, et al (1080)
- The effect of transgenic cucumber with double strands RNA of *mapk* on diversity of rhizosphere bacteria CHEN Guohua, MI Baobin, LI Ying, et al (1091)
- The ambient ozone pollution and foliar injury of the sensitive woody plants in Beijing exurban region WAN Wuxing, XIA Yajun, ZHANG Hongxing, et al (1098)
- Diversity and plant growth-promoting potential of culturable endophytic bacteria isolated from the leaves of *Atractylodes lancea* ZHOU Jiayu, JIA Yong, WANG Hongwei, et al (1106)
- Effects of the low temperature treatment on egg maturation and its numerical dynamics in the parasitoid *Pteromalus puparum* (Hymenoptera: Pteromalidae) XIA Shiyang, MENG Ling, LI Baoping (1118)
- Circadian rhythm of calling behavior and sexual pheromone production and release of the female *Zeuzera leuconotum* Butler (Lepidoptera: Cossidae) LIU Jinlong, JING Xiaoyuan, YANG Meihong, et al (1126)
- Influence of fluoride on activity of carboxylesterase and esterase in hemolymph of *Bombyx mori* MI Zhi, RUAN Chenglong, LI Jiaorong, et al (1134)
- Effects of water temperature on the embryonic development, survival and development period of larvae of ridgetail white prawn (*Exopalaemon carinicauda*) reared in the laboratory LIANG Junping, LI Jian, LI Jitao, et al (1142)

Population, Community and Ecosystem

- Diversity of ecosystem services and landscape multi-functionality: from scientific concepts to integrative assessment LÜ Yihe, MA Zhimin, FU Bojie, et al (1153)
- Research on estimating wetland vegetation abundance based on spectral mixture analysis with different endmember model: a case study in Wild Duck Lake wetland, Beijing CUI Tianxiang, GONG Zhaoning, ZHAO Wenji, et al (1160)
- Identifying typical plant ecological types based on spectral characteristic variables: a case study in Wild Duck Lake wetland, Beijing LIN Chuan, GONG Zhaoning, ZHAO Wenji, et al (1172)
- Responses of phytoplankton community to the construction of small hydropower stations in Hainan Province LIN Zhangwen, LIN Sheng, GU Jiguang, et al (1186)
- Diurnal variation of water quality around *Potamogeton crispus* population WANG Jinqi, ZHENG Youfei, WANG Guoxiang (1195)
- Effects of three forest restoration approaches on plant diversity in red soil region, southern China WANG Yun, OUYANG Zhiyun, ZHENG Hua, et al (1204)
- Dynamics of soil physical-chemical properties and organic carbon content along a restoration chronosequence in *Pinus tabulaeformis* plantations HU Huifeng, LIU Guohua (1212)
- Probability models of forest fire risk based on ecology factors in different vegetation regions over China LI Xiaowei, ZHAO Gang, YU Xiubo, et al (1219)

Landscape, Regional and Global Ecology

- Landscape ecological security dynamics in a fast growing urban district: the case of Dongguan City YANG Qingsheng, QIAO Jigang, AI Bin (1230)
- The difference between exergy and biodiversity in ecosystem health assessment: a case study of Jiangsu coastal zone TANG Dehao, ZOU Xinqing, LIU Xingjian (1240)
- Impacts of drying-wetting cycles on CO₂ and N₂O emissions from soils in different ecosystems OUYANG Yang, LI Xuyong (1251)
- Evaluation of low-carbon competitiveness in Western China JIN Xiaoqin, DU Shouhu (1260)
- Flood return period analysis of the Bayi Reservoir Watershed based on HEC-HMS Model ZHENG Peng, LIN Yun, PAN Wenbin, et al (1268)
- Simulation of rainfall interception process of primary korean pine forest in Xiaoxing'an Mountains by using the modified Gash model CHAI Rushan, CAI Tiju, MAN Xiuling, et al (1276)
- Characteristics of tree-ring chronology of *Pinus koraiensis* and its relationship with climate factors on the northern slope of Changbai Mountain CHEN Lie, GAO Lushuang, ZHANG Yun, et al (1285)

Resource and Industrial Ecology

- Nitrogen flows in "crop -edible mushroom" production systems in Hexi Corridor Oasis Irrigation Area LI Ruiqin, YU Anfen, ZHAO Youbiao, et al (1292)
- Effects of fertilization on soil fertility indices and yield of dry-land peanut WANG Caibin, ZHENG Yaping, LIANG Xiaoyan, et al (1300)
- Effect of tillage and residue management on dynamic of soil microbial biomass carbon PANG Xu, HE Wenqing, YAN Changrong, et al (1308)
- Evaluation of eco-security of cultivated land requisition-compensation balance based on improved set pair analysis SHI Kaifang, DIAO Chengtai, SUN Xiufeng, et al (1317)

Opinions

- Methodology for measuring forestry ecological security based on ecology-industry symbiosis: a research framework ZHANG Zhiguang (1326)

《生态学报》2013 年征订启事

《生态学报》是由中国科学技术协会主管,中国生态学学会、中国科学院生态环境研究中心主办的生态学高级专业学术期刊,创刊于 1981 年,报道生态学领域前沿理论和原始创新性研究成果。坚持“百花齐放,百家争鸣”的方针,依靠和团结广大生态学科工作者,探索自然奥秘,为生态学基础理论研究搭建交流平台,促进生态学研究深入发展,为我国培养和造就生态学科人才和知识创新服务、为国民经济建设和发展服务。

《生态学报》主要报道生态学及各分支学科的重要基础理论和应用研究的原始创新性科研成果。特别欢迎能反映现代生态学发展方向的优秀综述性文章;研究简报;生态学新理论、新方法、新技术介绍;新书评价和学术、科研动态及开放实验室介绍等。

《生态学报》为半月刊,大 16 开本,300 页,国内定价 90 元/册,全年定价 2160 元。

国内邮发代号:82-7,国外邮发代号:M670

标准刊号:ISSN 1000-0933 CN 11-2031/Q

全国各地邮局均可订阅,也可直接与编辑部联系购买。欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书馆等订阅。

通讯地址:100085 北京海淀区双清路 18 号 电 话:(010)62941099; 62843362

E-mail: shengtaixuebao@rcees.ac.cn 网 址: www.ecologica.cn

编辑部主任 孔红梅 执行编辑 刘天星 段 靖

生 态 学 报

(SHENGTAI XUEBAO)

(半月刊 1981 年 3 月创刊)

第 33 卷 第 4 期 (2013 年 2 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 33 No. 4 (February, 2013)

编 辑	《生态学报》编辑部 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085 电话:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn	Edited by	Editorial board of ACTA ECOLOGICA SINICA Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China Tel:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn
主 编	王如松	Editor-in-chief	WANG Rusong
主 管	中国科学技术协会	Supervised by	China Association for Science and Technology
主 办	中国生态学学会 中国科学院生态环境研究中心 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085	Sponsored by	Ecological Society of China Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
出 版	科 学 出 版 社 地址:北京东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717	Published by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷	北京北林印刷厂	Printed by	Beijing Bei Lin Printing House, Beijing 100083, China
发 行	科 学 出 版 社 地址:东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717 电话:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net	Distributed by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net
订 购	全国各地邮局	Domestic	All Local Post Offices in China
国外发行	中国国际图书贸易总公司 地址:北京 399 信箱 邮政编码:100044	Foreign	China International Book Trading Corporation Add:P. O. Box 399 Beijing 100044, China
广告经营 许 可 证	京海工商广字第 8013 号		



ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

国内外公开发行

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 90.00 元