

# 双去甲氧基姜黄素及其 N-甲基吡唑衍生物对朱砂叶螨生物活性和多种酶活性的影响

罗金香, 丁伟, 张永强, 杨振国, 李阳, 丁丽娟

(西南大学植物保护学院, 重庆 400715)

**摘要:**【目的】明确双去甲氧基姜黄素 (bisdemethoxycurcumin, BDMC) 及其 N-甲基吡唑衍生物 (N-methylpyrazolebisdemethoxycurcumin, N-MPBDMC) 对朱砂叶螨 (*Tetranychus cinnabarinus* Boisduval) 的生物活性及其体内多种酶活性的影响, 为进一步证实其作用机理提供依据。【方法】采用玻片浸渍法测定 BDMC 及 N-MPBDMC 对朱砂叶螨雌成螨的触杀毒力, 观察两者对朱砂叶螨的致毒症状, 并测定其对朱砂叶螨乙酰胆碱酯酶 (AChE)、Ca<sup>2+</sup>-ATP 酶 (Ca<sup>2+</sup>-ATPase)、单胺氧化酶 (MAO)、谷胱甘肽 S-转移酶 (GSTs) 和羧酸酯酶 (CarE) 活性的影响。【结果】N-MPBDMC 对朱砂叶螨雌成螨的触杀活性优于先导化合物 BDMC, 其中处理 72 h 后, N-MPBDMC 对朱砂叶螨的 LC<sub>50</sub> 为 21.77 mg·L<sup>-1</sup>, 其毒力是 BDMC 的 10.03 倍, 与 95% 哒螨灵原药的毒力相当。BDMC 和 N-MPBDMC 分别处理朱砂叶螨雌成螨后, 中毒试螨表现出类似神经毒剂的致毒症状, 螨体内 GSTs 和 CarE 活性均有不同程度上升, AChE、Ca<sup>2+</sup>-ATPase 和 MAO 活性均有不同程度下降, 其中 AChE 活性平均分别下降了 16.77% 和 36.57%, Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性平均分别下降了 17.55% 和 17.45%, MAO 活性平均分别下降了 8.04% 和 14.19%, GSTs 活性平均分别上升了 17.13% 和 18.93%, CarE 活性平均分别上升了 26.78% 和 25.98%。【结论】BDMC 和 N-MPBDMC 对朱砂叶螨的致死作用可能与其显著降低螨体内神经系统相关酶活性有关, 具体的作用靶标还有待进一步确证。

**关键词:** 双去甲氧基姜黄素; 双去甲氧基姜黄素 N-甲基吡唑; 朱砂叶螨; 酶活性

## Acaricidal Activity of Bisdemethoxycurcumin and N-methylpyrazolebisdemethoxycurcumin Against *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) and Their Effects on Enzymes Activity in the Mite

LUO Jin-xiang, DING Wei, ZHANG Yong-qiang, YANG Zhen-guo, LI Yang, DING Li-juan

(College of Plant Protection, Southwest University, Chongqing 400715)

**Abstract:** 【Objective】The objectives of this study are to investigate the acaricidal activity of bisdemethoxycurcumin (BDMC) and N-methylpyrazolebisdemethoxycurcumin (N-MPBDMC) against *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) and their effects on enzymes activity in the mite and to provide a basis for the further elucidation acaricidal mechanism of these two compounds.

【Method】The acaricidal activity of BDMC and N-MPBDMC against female adults of *T. cinnabarinus* was tested using the slide dip method and the poisoning symptoms of BDMC and N-MPBDMC exposed mites were carefully observed. The activities of acetylcholinesterase (AChE), Ca<sup>2+</sup>-ATP enzyme (Ca<sup>2+</sup>-ATPase), monoamine oxidase enzyme (MAO), glutathione S-transferases (GSTs) and carboxylesterase (CarE) of *T. cinnabarinus* treated with these two compounds were also determined. 【Result】The results of acaricidal bioassay indicated that N-MPBDMC exhibited more pronounced acaricidal activity than BDMC against female adults of *T. cinnabarinus*. After 72 h of *T. cinnabarinus* treatment, the LC<sub>50</sub> of N-MPBDMC was 21.77 mg·L<sup>-1</sup>, the acaricidal potency was

收稿日期: 2012-10-08; 接受日期: 2013-01-18

基金项目: 国家自然科学基金 (31272058)、中央高校基本科研业务费专项资金 (XDJK2010C079)、西南大学博士基金 (SWU112084)

联系方式: 罗金香, E-mail: xiangxiangnx@sohu.com. 通信作者丁伟, Tel: 023-68251541; E-mail: dwing818@yahoo.com.cn

about 10.03-fold higher than BDMC and comparable with that of 95% pyridaben TC. Some similar neurotoxic symptoms were observed in BDMC and N-MPBDMC-exposed mites. After *T. cinnabarinus* treatment with BDMC and N-MPBDMC, respectively, the activities of GSTs and CarE were strongly rising whereas the activities of AchE,  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase and MAO were declining, the average activities of AchE decreased by 16.77% and 36.57%, that of  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase decreased by 17.55% and 17.45%, that of MAO decreased by 8.04% and 14.19%, while that of GSTs increased by 17.13% and 18.93%, and that of CarE increased by 26.78% and 25.98%, respectively.

【Conclusion】The mortality of mites that caused by BDMC and N-MPBDMC related to the decline of neural system related enzyme activities, and the specific action target remains to be further confirmed.

Key words: bisdemethoxycurcumin; N-methylpyrazolebisdemethoxycurcumin; *Tetranychus cinnabarinus*; enzymes activity

## 0 引言

【研究意义】植食性农业螨类是危害农业生产的重要生物类群之一,具有个体较小、世代周期短、繁殖力强、易产生抗药性等特点,可危害几乎遍及世界范围内所有的农作物,取食植物后,引起植物的正常生理机能受损,轻则叶片变色和落叶、落蕾、落果,造成减产,重则整株死亡<sup>[1-3]</sup>。朱砂叶螨 (*Tetranychus cinnabarinus* Boisduval) 属于叶螨科 (Tetranychidae) 叶螨属,又名红蜘蛛,是世界性经济害螨,可危害多种作物,尤其对棉花、多种蔬菜及花卉造成严重危害,使其产量和品质大幅下降<sup>[4]</sup>。目前,对害螨的防治主要是大量重复使用非专一性化学杀螨剂,不可避免地产生“3R”问题,破坏生态环境,因此,寻找新型的环境相容性螨类控制剂已势在必行。植物源杀螨物质具有低毒、选择性高、环境相容性好、不易产生抗性等优点,倍受国内外农药研究开发专家的青睐。【前人研究进展】近年来,有关植物源杀螨活性成分及其对害螨体内酶活性影响的研究报道比较多,如梁为等研究发现瑞香狼毒 (*Stellera chamaejasme*) 具有优异的杀螨活性,进行杀螨活性成分追踪发现起主要杀螨活性成分为东茛菪内酯,其次为  $\beta$ -谷甾醇和角鲨烯,其中东茛菪内酯处理朱砂叶螨后,中毒试螨表现出神经毒剂症状,且神经系统酶系 AchE、MAO、 $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPase 和  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 活性均显著降低<sup>[5-6]</sup>;段丹丹等报道了旋覆花石油醚提取物对朱砂叶

螨具有较好的触杀活性,柱层析分离 GC/MS 鉴定杀螨活性成分为羽扇豆醇,经羽扇豆醇处理朱砂叶螨后,螨体内过氧化物酶活性上升,而 GSTs 和  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性均有不同程度的下降<sup>[7]</sup>;杜娟等报道了从牵牛子中提取出的棕榈油酸甲酯对朱砂叶螨有一定的致死作用,采用棕榈油酸甲酯处理朱砂叶螨后,螨体内解毒酶 GSTs 活性上升, AchE、 $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPase 活性均有不同程度的下降<sup>[8]</sup>。姜黄 (*Curcuma longa* L.) 具有多种药理活性,如抗氧化、抗炎、降血脂和抗癌等活性<sup>[9-14]</sup>,近年来研究发现其正己烷和苯提取物对朱砂叶螨具有显著的触杀活性,其杀螨活性的主要成分为姜黄素类化合物<sup>[15-16]</sup>,构效关系研究结果表明双去甲氧基姜黄素 (bisdemethoxycurcumin, BDMC) 杀螨活性明显高于姜黄素 (curcumin, CCM) 和去甲氧基姜黄素 (demethoxycurcumin, DMC),处理 48 h 后,其杀螨毒力约是姜黄素的 5 倍<sup>[16]</sup>,但是,与常规杀螨药剂相比,其杀螨活性仍然比较低,以其为先导化合物进行结构改造或者修饰,以期寻找到杀螨活性更为理想的化合物。【本研究切入点】目前尚未见姜黄素类化合物对朱砂叶螨体内酶活性影响的报道,其致螨死亡的机理不明确。采用活性因子拼接法将具有杀螨活性的吡唑基团引入双去甲氧基姜黄素结构中合成了一系列双去甲氧基姜黄素吡唑衍生物,通过杀螨活性筛选发现双去甲氧基姜黄素 N-甲基吡唑 (N-methylpyrazolebisdemethoxycurcumin, N-MPBDMC) (结构式如图 1 所示) 具有优异的杀螨

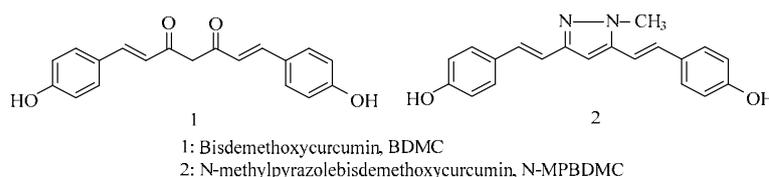


图 1 双去甲氧基姜黄素 (BDMC) 及其 N-甲基吡唑衍生物 (N-MPBDMC) 的结构式

Fig. 1 The structures of BDMC and N-MPBDMC

活性,进而研究 BDMC 及其 N-MPBDMC 衍生物对朱砂叶螨的致毒症状。【拟解决的关键问题】根据中毒试螨表现出类似神经毒剂的致毒症状,测定 BDMC 及其 N-MPBDMC 衍生物对几种神经系统靶标酶和 2 种解毒酶的影响,以期为明确对朱砂叶螨的作用机理和开发环境相容性的新型植物源杀螨剂提供理论基础。

## 1 材料与方法

试验于 2010 年 10 月至 2012 年 1 月在西南大学植物保护学院农药系天然产物农药研究室进行。

### 1.1 试验材料

供试朱砂叶螨最初采自重庆市北碚区田间的豇豆苗,在人工气候室内(26±1)、相对湿度 60%—80%、光照(L:D)=14 h:10 h 条件下,用盆栽豇豆苗饲养多年,未接触任何药剂所获得的敏感品系。试验前栽种一批豇豆苗,往每株苗子上挑朱砂叶螨雌成螨 30 头,任其产卵,24 h 后移去雌成螨,同样条件下饲养 8—10 d 作为供试生物。

90.0%双去甲氧基姜黄素购自河北食品添加剂有限公司,经提纯(99.2%)后使用,99.6%甲基胍硫酸盐购自东力(南通)化工有限公司,95%哒螨灵原药购自南京第一农药厂,柱层层析硅胶(200—300 目)(试剂级)、薄层层析硅胶(GF254)(化学纯)购自青岛海洋化工有限公司,考马斯亮蓝 G-250、牛血清白蛋白组份五(冻干粉)、还原型谷胱甘肽和十二烷基硫酸钠购自北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司,Ca<sup>2+</sup>-ATPase 试剂盒和 MAO 试剂盒购自南京建成生物工程研究所,1-氯-2,4-二硝基苯、毒扁豆碱购自美国 BBL,5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)、坚固蓝 B 盐购自 Sigma 公司,碘化硫代乙酰胆碱购自 Fluka 公司,其它试剂均为分析纯,购自成都市科龙化学试剂厂。

### 1.2 试验方法

1.2.1 N-MPBDMC 的制备 称取甲基胍硫酸盐 0.434 g (3 mmol)置于 100 mL 三口瓶中,加入溶有 0.240 g (6 mmol)氢氧化钠的水溶液 5 mL,升温至 60 反应 15 min,过滤得溶有甲基胍的水溶液。称取 BDMC 0.616 g (2 mmol)置于 100 mL 三口瓶中,加入 15 mL 冰乙酸,加热至完全溶解,降温至 50 滴加溶有甲基胍的水溶液,滴加完毕升温至回流反应 16 h,薄层层析(thin-layer chromatography, TLC)(石油醚:乙酸乙酯=3:2, V/V,紫外灯下观察)监测反应进程。反应结束后旋转蒸出溶剂,得红色固体,用乙酸乙酯加热萃取 2 次(25 mL×2),合并有机层并用饱和碳

酸钠和饱和氯化钠溶液洗涤,过无水硫酸钠,浓缩至干,硅胶柱层析(石油醚:乙酸乙酯=6:3 开始梯度洗脱)分离得白色固体 0.288 g,收率 45.28%。m.p. 280.2—281.0 ; IR (KBr, cm<sup>-1</sup>) v: 3340 (Ar-OH), 3015 (Ar-H), 2940 (-CH<sub>3</sub>), 1594, 1515, 1446 (Ar C-C), 1371 (N-C); <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 Hz) δ: 3.86 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 6.75—6.86 (m, 4H, Ar-H), 6.87 (s, 1H, C<sub>4</sub>-H), 6.98 (d, J=1.2 Hz, 2H, C<sub>2</sub>-H 和 C<sub>6</sub>-H), 7.02 (d, J=1.2 Hz, 2H, C<sub>1</sub>-H 和 C<sub>7</sub>-H), 7.43 (dd, J=13 Hz, 2.1 Hz, 4H, Ar-H); <sup>13</sup>C NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 Hz) δ: 36.15, 98.38, 111.60, 115.39, 117.52, 127.51, 128.04, 128.60, 131.34, 142.09, 148.77, 156.91, 157.47; ESI-MS (m/z, %): 318 [M<sup>+</sup>, 100]。1.2.2 杀螨活性测定方法 分别称取 10 mg BDMC 及 N-MPBDMC,加入 40 mg 吐温-80 和 50 mg 月桂氮酮充分搅拌后用 0.2 mL 丙酮溶解,最后用水稀释配制浓度为 1 000 mg·L<sup>-1</sup>供初筛,在初试的基础上选用 5—7 个系列浓度,作毒力回归分析,清水作空白对照,95%哒螨灵原药为阳性对照,试验重复 3 次。

采用联合国粮农组织(FAO)推荐的玻片浸渍标准方法<sup>[17]</sup>,将双面胶带粘于载玻片一端,揭去上面的纸片,用零号毛笔挑取大小一致、颜色鲜艳的活泼朱砂叶螨雌成螨,将其背部粘在双面胶带上,不可粘住螨足、口器及须肢,保证螨足自由活动,每片粘约 35 头,粘好螨的玻片放置在温度为(26±1)、相对湿度 60%—80%条件下静置 4 h,双目解剖镜下检查,剔除不活动、受伤和粘的不合格的螨,记录活螨数。将带螨的一端浸入药液 5 s 后取出,迅速用吸水纸条吸干螨体及其周围多余的药液,同等饲养条件下培养 3 d,分别于 48 和 72 h 各检查一次结果,用毛笔轻触螨体,以螨足不动者为死亡。由 SPSS 软件分别求出目标化合物的毒力回归方程及 LC<sub>50</sub>。

1.2.3 症状观察 采用叶蝶浸渍法<sup>[18]</sup>,取直径 7.0 cm、高 0.9 cm 的塑料培养皿,在培养皿内铺一层厚约 0.3 cm 直径 5 cm 的脱脂棉,在脱脂棉上放一张直径大小相同的滤纸,然后在培养皿内加水制成水培养台,取平展的豇豆苗叶片洗干净,叶面朝下放到水培养台上,每一叶片挑入朱砂叶螨雌成螨 20 头以上,待雌成螨稳定后,将叶片连同雌成螨一起浸入药液(100、200、400 和 800 mg·L<sup>-1</sup>)中 5 s 后取出,迅速吸干螨体周围多余的药液,放回水培养台上,对照为清水,叶片边缘用湿面条围住防止螨逃逸。每隔 4 h 观察 1 次雌成螨的活动及反应状况。

1.2.4 酶活性测定 酶液的制备: 试虫采用触杀方法处理, 分别在处理后 8、16、24、36、48 h 时取朱砂叶螨雌成螨 100 头于匀浆器, 根据测定的酶的不同, 加入不同溶液 0.25 mL (AchE:  $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  pH 7.4 磷酸缓冲液;  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase、MAO 和 GSTs: 生理盐水; CarE:  $40 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  pH 7.0 磷酸缓冲液) 于冰浴中充分匀浆,  $10\,000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ , 4 下离心 15 min, 取上清液备用。

酶源蛋白浓度的测定: 采用考马斯亮蓝 G-250 法<sup>[19]</sup>, 取 5 mL 考马斯亮蓝 G-250 试剂于试管中, 再加入 0.2 mL 酶液, 混匀, 在 25 条件下, 于 595 nm 处测定 5 min 之内 OD 值, 重复 3 次, 根据标准曲线计算出蛋白质含量。

乙酰胆碱酯酶 (AchE) 测定: 参照 Ellman 等<sup>[20]</sup>创制的乙酰硫代胆碱-二硫双对硝基苯甲酸法并有所改进。将 2.0 mL  $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  pH 7.4 磷酸缓冲液, 底物  $0.075 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  碘化硫代乙酰胆碱 (ASCh) 溶液 0.2 mL, 酶液 0.2 mL 依次加入试管中, 于 27 水浴中反应 15 min 后, 加入终止剂  $1 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  毒扁豆碱溶液 0.3 mL 和显色剂  $0.01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  5,5'-二硫代双 (2-硝基苯甲酸) (DTNB) 溶液 0.3 mL, 混匀, 在 412 nm 处测定吸光度, 对照以  $0.2 \text{ mL } 0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  pH 7.4 磷酸缓冲液代替酶液, 其余处理相同, 重复 3 次。

$\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶测定: 参照  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 试剂盒的方法, 测定 636 nm 处各管光度值, 蒸馏水调零, 重复 3 次, 以每小时每毫克组织蛋白中的组织中 ATP 酶分解 ATP 产生  $1 \mu\text{mol}$  无机磷的量为 1 个 ATP 酶活性单位。

单胺氧化酶 (MAO): 参照 MAO 试剂盒的方法,

以苯胺为底物, 在 MAO 作用下, 生成苯醛, 环己烷提取, 在 242 nm 下测定吸光度, 重复 3 次, 可测算出酶活性。

谷胱甘肽 S-转移酶 (GSTs): 将  $66 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  pH 7.0 磷酸缓冲液 2.5 mL、 $50 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  还原型谷胱甘肽 0.2 mL、 $30 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  1-氯-2,4-二硝基苯 0.05 mL 和 0.1 mL 酶液依次加入试管中, 迅速混匀, 在 27 下于 340 nm 处测定 5 min 内 OD 值变化, 对照以  $0.1 \text{ mL } 66 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  pH 7.0 磷酸缓冲液代替酶液, 其余处理相同, 重复 3 次。

羧酸酯酶 (CarE): 参照 Van Asperen<sup>[21]</sup>方法, 将  $0.03 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\alpha$ -醋酸萘酯 1.0 mL、 $3 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  毒扁豆碱 0.8 mL 和 0.1 mL 酶液依次加入试管中, 于 30 的水浴中反应 15 min 后, 加显色剂 1.0 mL, 混匀, 在 600 nm 测定 OD 值, 对照以  $0.1 \text{ mL } 40 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  pH 7.0 磷酸缓冲液代替酶液, 其余处理相同, 重复 3 次, 以  $\alpha$ -萘酚准曲线和酶源蛋白浓度算出酶活性。

## 2 结果

### 2.1 杀螨活性

由表可以看出, N-MPBDMC 对朱砂叶螨雌成螨的触杀活性较先导化合物 BDMC 高, 且两者的杀螨活性均随着处理时间的延长而提高。其中处理 48 h 后, N-MPBDMC 对朱砂叶螨的  $\text{LC}_{50}$  为  $80.28 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 其毒力比母体化合物 BDMC 提高了 4.11 倍, 处理 72 h 后, N-MPBDMC 对朱砂叶螨的  $\text{LC}_{50}$  降至  $21.77 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 是 BDMC 的 10.03 倍, 与 95% 哒螨灵原药的毒力相当。

表 BDMC 和 N-MPBDMC 对朱砂叶螨雌成螨的触杀活性

Table Contact activity of BDMC and N-MPBDMC against female adults of *T. cinnabrinus*

化合物 Compound	处理时间 Time (h)	毒力回归方程 Regressive equation ( $y=$ )	$\text{LC}_{50}$ 及 95% 的置信限 $\text{LC}_{50}$ and 95% confidence limit ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	$\chi^2$	P
BDMC	48	$-5.8751+2.3328x$	329.96 (277.13—383.21)	0.711	0.871
	72	$-4.8098+2.0563x$	218.28 (167.53—266.12)	1.308	0.727
N-MPBDMC	48	$-3.2050+1.6828x$	80.28 (46.42—112.21)	1.172	0.760
	72	$-1.6274+1.2165x$	21.77 (2.83—49.84)	0.572	0.903
95% 哒螨灵原药	48	$-2.4068+1.8209x$	20.98 (17.68—25.71)	3.744	0.290
95% Pyridaben TC	72	$-2.2405+1.7194x$	20.09 (16.83—24.82)	4.206	0.240

### 2.2 致毒症状

不同浓度 BDMC 和 N-MPBDMC 处理朱砂叶螨雌成螨后进行症状观察, 结果表明高浓度 ( $800 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 处理后, 朱砂叶螨在观察期基本都不动, 螨体逐渐膨

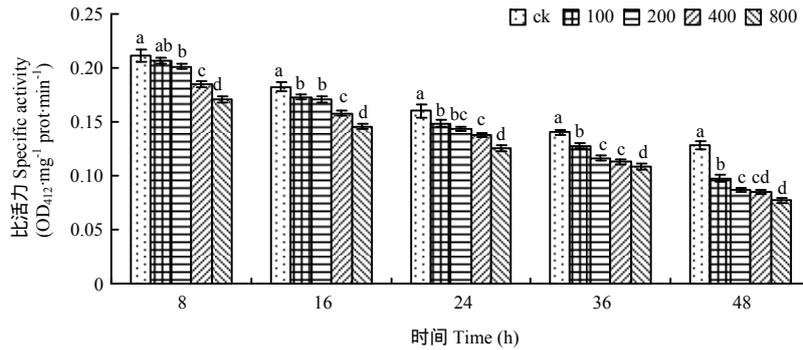
大, 颜色由前期的发红到后期变黑, 体表失水, 最后干枯死亡; 其余各浓度均出现以下症状: 最初药剂处理完进入静止状态, 然后表现为站立不稳, 侧卧或者仰卧足动、试图翻身, 足过度伸张, 身体重心抬高,

运动失调，蹒跚爬行，四处扩散，螨体打颤、痉挛、抽搐，最后螨体膨大失水死亡。表现为类似神经毒剂的中毒症状。

### 2.3 BDMC 和 N-MPBDMC 对朱砂叶螨 AchE 的影响

2.3.1 BDMC 对朱砂叶螨 AchE 活性的影响 BDMC 处理朱砂叶螨雌成螨后，AchE 活性变化如图 2 所示，对照 AchE 的活性在不同处理时间段均高于各处理，方差分析显示，除 8 h 的 100 mg·L<sup>-1</sup> 与相应对照差异不

显著 ( $P > 0.05$ ,  $F=34.38$ ,  $df=4, 10$ ) 外，其余各处理 AchE 活性与相应对照均有显著性差异。在不同药液浓度处理下，AchE 活性随着处理时间的延长而下降，如处理浓度为 400 mg·L<sup>-1</sup> 的酶活性由 8 h 的 0.1851 mg<sup>-1</sup> prot·min<sup>-1</sup> 逐渐降至 48 h 的 0.0852 mg<sup>-1</sup> prot·min<sup>-1</sup>。在各处理时间段，随着处理浓度的提高 AchE 活性逐渐下降，如处理 48 h 后，800 mg·L<sup>-1</sup> AchE 的活性已下降到相应对照的 59.89%。



图中小写字母表示同一时间不同处理浓度之间酶活性差异，相同字母表示显著不差异，不同字母间表示显著差异 ( $P < 0.05$ )。下同  
The lowercase letters superscript on this figure indicated the differences activity of enzyme of *T. cinnabarinus* after different density treatment at the same time, there was a significant difference between the representatives of different letters ( $P < 0.05$ ), with the same letter there was no significant difference. The same as below

图 2 BDMC 对朱砂叶螨 AchE 活性的影响

Fig. 2 Effect of BDMC on the activity of AchE of *T. cinnabarinus*

2.3.2 N-MPBDMC 对朱砂叶螨 AchE 活性的影响 在 N-MPBDMC 胁迫下朱砂叶螨 AchE 活性变化如图 3 所示。对照 AchE 的活性在不同处理时间段均高于各处理，方差分析显示，各处理 AchE 活性与相应对照存在显著性差异 ( $P < 0.05$ )。在药液各浓度处理下，AchE 活性随着处理时间的延长而逐渐下降。除 8 h 的 200

mg·L<sup>-1</sup> 与 400 mg·L<sup>-1</sup>、400 mg·L<sup>-1</sup> 与 800 mg·L<sup>-1</sup> ( $P > 0.05$ ,  $F=42.46$ ,  $df=4, 10$ ) 及 48 h 的 100 mg·L<sup>-1</sup> 与 200 mg·L<sup>-1</sup>、400 mg·L<sup>-1</sup> 与 800 mg·L<sup>-1</sup> ( $P > 0.05$ ,  $F=195.16$ ,  $df=4, 10$ ) AchE 活性不存在显著性差异外，其余各浓度处理在不同时间段 AchE 活性均存在显著性差异 ( $P < 0.05$ )，且随着处理浓度的提高 AchE 活性逐渐下降。

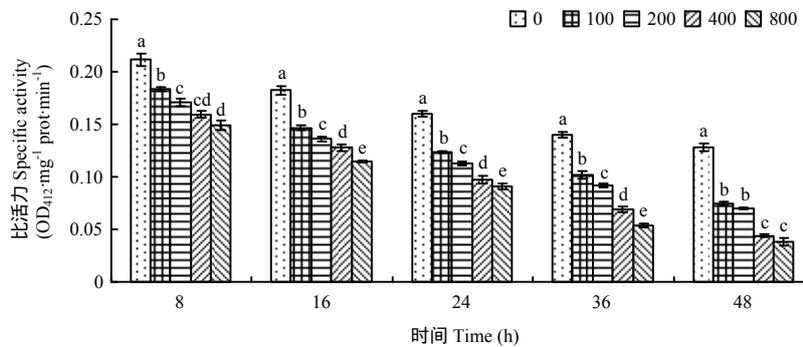


图 3 N-MPBDMC 对朱砂叶螨 AchE 活性的影响

Fig. 3 Effect of N-MPBDMC on the activity of AchE of *T. cinnabarinus*

2.3.3 BDMC 和 N-MPBDMC 对朱砂叶螨 AchE 活性影响的比较 BDMC 和 N-MPBDMC 对朱砂叶螨 AchE 活性的影响见图 2 和图 3。不同浓度的 BDMC 和 N-MPBDMC 处理朱砂叶螨不同时间后,其体内 AchE 活性均有不同程度下降,且随着处理时间的延长和处理浓度的提高 AchE 活性逐渐降低。在相同条件下, N-MPBDMC 处理后朱砂叶螨 AchE 活性低于 BDMC 的处理。BDMC 处理朱砂叶螨后 AchE 活性下降 2.27%—40.11%, 平均下降 16.77%, N-MPBDMC 处理朱砂叶螨后 AchE 活性下降 13.10%—70.40%, 平均下降 36.57%, 其中两者在 100 mg·L<sup>-1</sup> 分别处理 8 h 时, AchE 活性下降的比值达到最高, 为 5.77 倍, 两者在浓度为 200 mg·L<sup>-1</sup> 分别处理 48 h 时, AchE 活性下降的比值最低, 为 1.41 倍。两者处理朱砂叶螨后, AchE 活性平均下降的比值为 2.18 倍。

2.4 BDMC 和 N-MPBDMC 对朱砂叶螨 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 的影响

2.4.1 BDMC 对朱砂叶螨 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性的影响 从

图 4 可以看出,不同浓度 BDMC 处理后, Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性总体上表现为先上升后下降的趋势。除 48 h 的 100 mg·L<sup>-1</sup> 处理与相应对照相比不存在显著性差异 (P > 0.05, F=2948.44, df=4, 10) 外, 其余各处理 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性与相应对照均有显著性差异 (P < 0.05), 且各处理的 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性均低于对照。在各处理时间段, Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性随着处理浓度的增大而逐渐下降且存在显著性差异 (P < 0.05)。

2.4.2 N-MPBDMC 对朱砂叶螨 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性的影响

从图 5 可以看出,不同浓度 N-MPBDMC 处理朱砂叶螨后,除 800 mg·L<sup>-1</sup> 外,其余各浓度的 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性表现为先上升后下降的趋势,800 mg·L<sup>-1</sup> 的 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性除在 36 h 突然上升外,其余时间段均表现为下降的趋势。在不同时间段,对照 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性均高于各处理,且与各处理之间存在显著性差异 (P < 0.05)。在不同时间段, Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性均随着处理浓度的提高而逐渐降低,且存在显著性差异 (P < 0.05)。

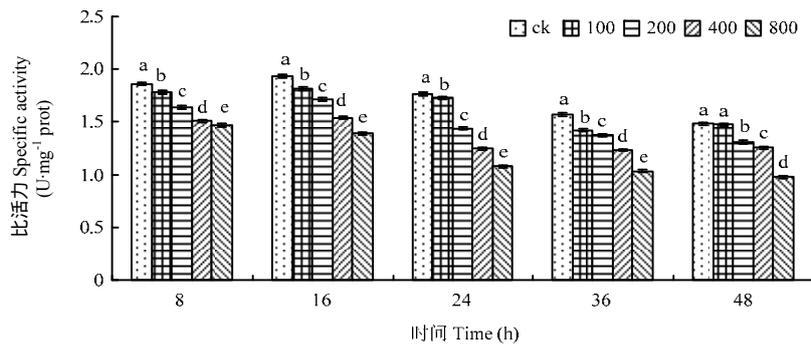


图 4 BDMC 对朱砂叶螨 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性的影响

Fig. 4 Effect of BDMC on the activity of Ca<sup>2+</sup>-ATPase of *T. cinnabarinus*

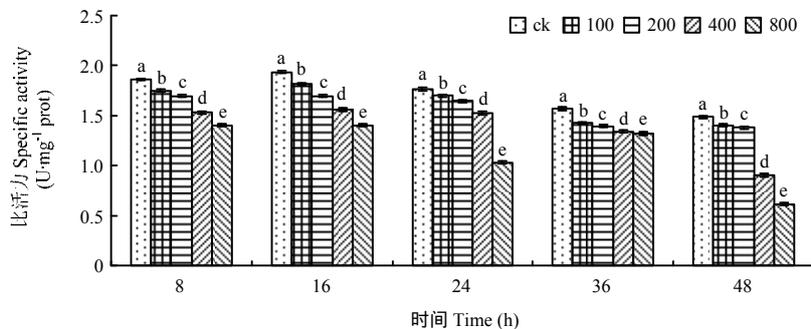


图 5 N-MPBDMC 对朱砂叶螨 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性的影响

Fig. 5 Effect of N-MPBDMC on the activity of Ca<sup>2+</sup>-ATPase of *T. cinnabarinus*

2.4.3 BDMC 和 N-MPBDMC 对朱砂叶螨  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性影响的比较 BDMC 和 N-MPBDMC 对朱砂叶螨  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性的影响见图 4 和图 5。不同浓度的 BDMC 和 N-MPBDMC 处理朱砂叶螨不同时间段, 其体内  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性均有所下降。BDMC 处理后, 朱砂叶螨的  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性下降了 0.81%—38.73%, 平均下降了 17.55%, N-MPBDMC 处理后, 朱砂叶螨  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性下降了 3.61%—58.57%, 平均下降了 17.45%。其中两者分别处理朱砂叶螨后,  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 酶活性下降差异较大的为个别处理浓度和时间段, 而非整体表现,  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性下降的比值高于 2.0 为 48 h 的 100  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和 400  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 分别为 6.93 和 2.52 倍;  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性下降的比值低于 0.5 为 24 h 的 200  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、400  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和 36 h 的 800  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 分别为 0.35、0.47 和 0.46, 且  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性平均下降程度均较强, 但差异不明显。

## 2.5 BDMC 和 N-MPBDMC 对朱砂叶螨 MAO 的影响

### 2.5.1 BDMC 对朱砂叶螨 MAO 活性的影响 BDMC 胁迫

迫下朱砂叶螨 MAO 活性变化如图 6 所示。对照 MAO 活性均高于各处理, 方差分析显示, 对照 MAO 活性与各处理之间均存在显著性差异 ( $P < 0.05$ )。各处理 MAO 活性随着处理时间的延长而逐渐下降, 在各处理时间段, 各处理之间 MAO 活性均存在显著性差异 ( $P < 0.05$ ), 且随着处理浓度的提高 MAO 活性逐渐下降。2.5.2 N-MPBDMC 对朱砂叶螨 MAO 活性的影响 从图 7 可以看出, 对照 MAO 活性均高于各处理, 方差分析显示, 对照 MAO 活性与各处理之间均存在显著性差异 ( $P < 0.05$ )。在 100  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和 200  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  处理下, 除 36 h 有个小高峰外, 其余各时间段, MAO 活性均表现为下降的趋势; 在 400  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和 800  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  处理下, MAO 活性均表现为先下降再上升最后又下降的趋势。除 48 h 的 200  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和 400  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  MAO 活性之间不存在显著性差异 ( $P > 0.05$ ,  $F=307.96$ ,  $df=4, 10$ ) 外, 其余各处理 MAO 活性均存在显著性差异 ( $P < 0.05$ ), 且随着处理浓度的增大其活性逐渐下降。

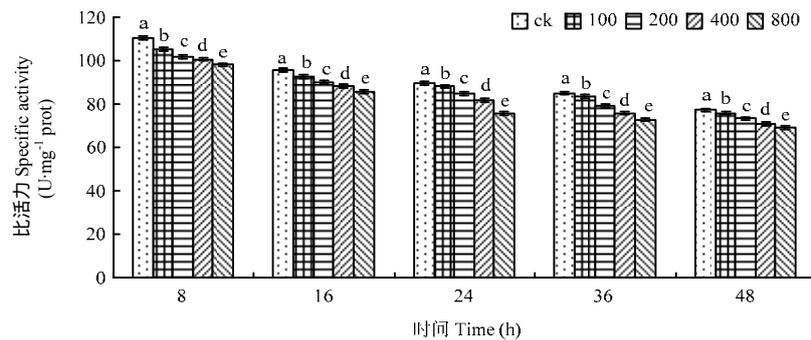


图 6 BDMC 对朱砂叶螨 MAO 活性的影响

Fig. 6 Effect of BDMC on the activity of MAO of *T. cinnabarinus*

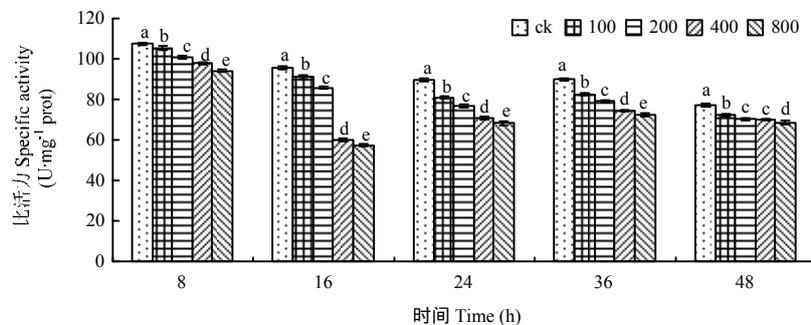


图 7 N-MPBDMC 对朱砂叶螨 MAO 活性的影响

Fig. 7 Effect of N-MPBDMC on the activity of MAO of *T. cinnabarinus*

2.5.3 BDMC 和 N-MPBDMC 对朱砂叶螨 MAO 活性影响的比较 BDMC 和 N-MPBDMC 对朱砂叶螨 MAO 活性的影响见图 6 和图 7。在相同条件下, N-MPBDMC 和 BDMC 分别处理朱砂叶螨后, 其体内 MAO 活性的比值在 1.00—5.79 倍, 其中 BDMC 处理朱砂叶螨后, MAO 活性下降了 1.66%—18.94%, 平均下降了 8.04%, N-MPBDMC 处理朱砂叶螨后, MAO 活性下降了 2.09%—40.04%, 平均下降了 14.19%。

2.6 BDMC 和 N-MPBDMC 对朱砂叶螨 GSTs 的影响

2.6.1 BDMC 对朱砂叶螨 GSTs 活性的影响 从图 8 可以看出, 对照 GSTs 活性均低于各处理, 方差分析显示, 除 36 h 的 100 mg·L<sup>-1</sup> 与相应对照差异不显著 ( $P > 0.05$ ,  $F=238.42$ ,  $df=4, 10$ ) 外, 其余各处理均与相应对照存在显著性差异 ( $P < 0.05$ )。除 8 h 的 100 mg·L<sup>-1</sup> 与 200 mg·L<sup>-1</sup> ( $P > 0.05$ ,  $F=755.08$ ,  $df=4, 10$ )、24 h 的 100 mg·L<sup>-1</sup> 与 200 mg·L<sup>-1</sup> ( $P > 0.05$ ,  $F=903.08$ ,  $df=4, 10$ ) 差异不显著外, 其余各处理的 GSTs 活性均存在

显著性差异 ( $P < 0.05$ ), 且随着处理浓度的提高 GSTs 活性也逐渐升高。除 48 h 外, 各处理的 GSTs 活性总体上表现为随着处理时间的延长而逐渐下降, 而在 48 h, 各处理的 GSTs 活性均有所升高。

2.6.2 N-MPBDMC 对朱砂叶螨 GSTs 活性的影响 从图 9 可以看出, 对照 GSTs 活性均低于各处理, 方差分析显示, 除 16 h 的 100 mg·L<sup>-1</sup> 与相应对照 ( $P > 0.05$ ,  $F=518.08$ ,  $df=4, 10$ )、24 h 的 100 mg·L<sup>-1</sup> 与相应对照 ( $P > 0.05$ ,  $F=2397.26$ ,  $df=4, 10$ ) 差异不显著外, 其余各处理均与相应对照存在显著性差异 ( $P < 0.05$ )。除 24 h 的 400 mg·L<sup>-1</sup> 与 800 mg·L<sup>-1</sup> ( $P > 0.05$ ,  $F=2397.26$ ,  $df=4, 10$ )、36 h 的 100 mg·L<sup>-1</sup> 与 200 mg·L<sup>-1</sup>、200 mg·L<sup>-1</sup> 与 400 mg·L<sup>-1</sup> ( $P > 0.05$ ,  $F=196.24$ ,  $df=4, 10$ ) 差异不显著外, 其余各处理的 GSTs 活性均存在显著性差异 ( $P < 0.05$ ), 且在同一处理时间段随着处理浓度的提高 GSTs 活性也逐渐升高, 100 mg·L<sup>-1</sup> 与 200 mg·L<sup>-1</sup> 处理的 GSTs 活性随着处理时间的延长而逐渐下降。

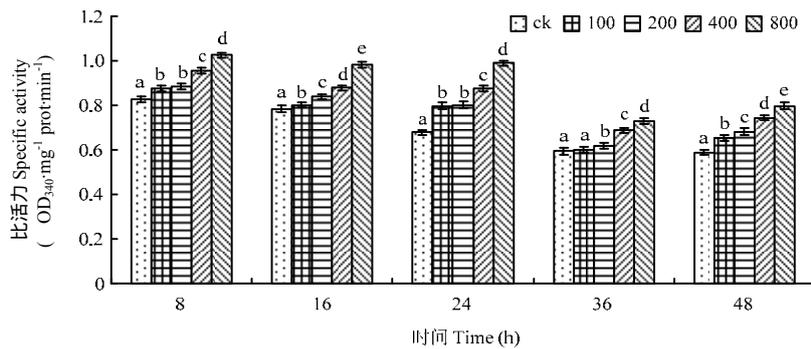


图 8 BDMC 对朱砂叶螨 GSTs 活性的影响

Fig. 8 Effect of BDMC on the activity of GSTs of *T. cinnabarinus*

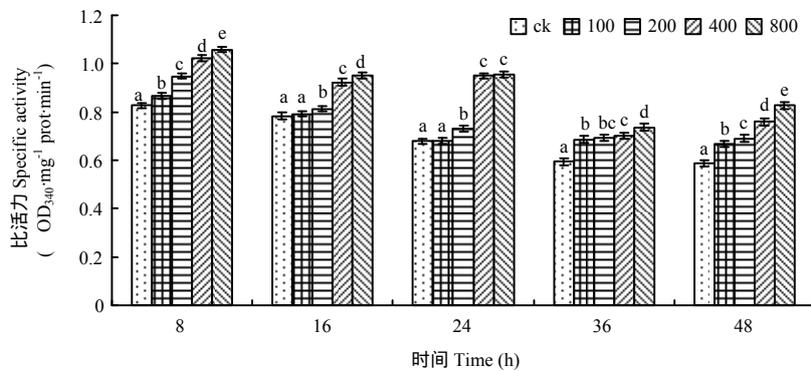


图 9 N-MPBDMC 对朱砂叶螨 GSTs 活性的影响

Fig. 9 Effect of N-MPBDMC on the activity of GSTs of *T. cinnabarinus*

2.6.3 BDMC 和 N-MPBDMC 对朱砂叶螨 GSTs 活性影响的比较 BDMC 和 N-MPBDMC 对朱砂叶螨 GSTs 酶活性的影响见图 8 和图 9。BDMC 和 N-MPBDMC 分别处理朱砂叶螨后，其体内 GSTs 活性均有所上升，其中 BDMC 处理朱砂叶螨后，GSTs 活性上升了 1.03%—45.73%，平均上升了 17.13%，N-MPBDMC 处理朱砂叶螨后，GSTs 活性上升了 0.35%—40.67%，平均上升了 18.93%。在相同处理条件下，GSTs 活性上升差异较大的为个别处理浓度和时间段，而非整体表现，GSTs 活性上升的比值高于 2.00 的为 8 h 的 200 mg·L<sup>-1</sup>、36 h 的 100 mg·L<sup>-1</sup> 和 200 mg·L<sup>-1</sup>，分别为 2.09、15.09 和 4.25 倍，GSTs 活性上升的比值低于 0.50 的为 16 h 的 100 mg·L<sup>-1</sup>、24 h 的 100 mg·L<sup>-1</sup> 和 200 mg·L<sup>-1</sup>，分别为 0.47、0.02 和 0.43，且 GSTs 活性平均上升程度均较强，但差异不明显。

2.7 BDMC 和 N-MPBDMC 对朱砂叶螨 CarE 的影响

2.7.1 BDMC 对朱砂叶螨 CarE 活性的影响 从图 10

可以看出，各处理 CarE 活性均高于相应的对照，方差分析显示，除 36 h 的 100 mg·L<sup>-1</sup> 与其对照差异不显著 ( $P > 0.05$ ,  $F=47.64$ ,  $df=4, 10$ ) 外，其余各处理 CarE 活性与其对照均有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。各处理 CarE 活性随着处理时间的延长而逐渐下降，如 400 mg·L<sup>-1</sup> 的 CarE 活性由 8 h 的 5.8911  $\mu\text{mol } \alpha\text{-naphthol}\cdot 15\text{min}^{-1}\cdot \text{mg}^{-1}\text{prot}$  逐渐降至 48 h 的 3.2780  $\mu\text{mol } \alpha\text{-naphthol}\cdot 15\text{min}^{-1}\cdot \text{mg}^{-1}\text{prot}$ 。除 8 h 外，其余各处理时间段，各处理的 CarE 活性均存在显著性差异 ( $P < 0.05$ )，且随着处理浓度的提高 CarE 活性也随之增大。

2.7.2 N-MPBDMC 对朱砂叶螨 CarE 活性的影响 从图 11 可以看出，在各处理时间段各处理的 CarE 活性均高于相应的对照，方差分析显示，除 16 h 的 100 mg·L<sup>-1</sup> 与其对照差异不显著 ( $P > 0.05$ ,  $F=49.35$ ,  $df=4, 10$ ) 外，其余各处理的 CarE 活性与其对照均存在显著性差异 ( $P < 0.05$ )。处理 8 h 后，对照及各处理的 CarE

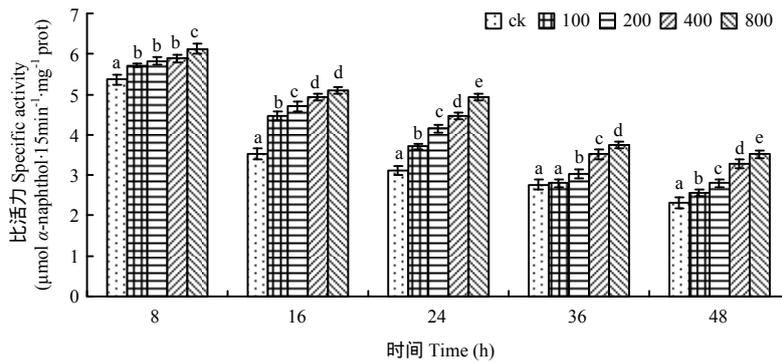


图 10 BDMC 对朱砂叶螨 CarE 活性的影响

Fig. 10 Effect of BDMC on the activity of CarE of *T. cinnabarinus*

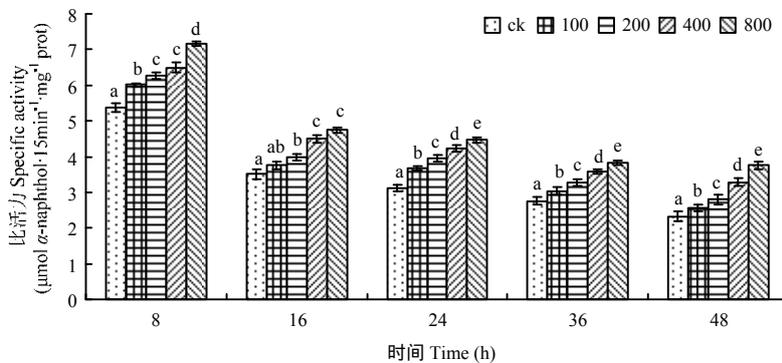


图 11 N-MPBDMC 对朱砂叶螨 CarE 活性的影响

Fig. 11 Effect of N-MPBDMC on the activity of CarE of *T. cinnabarinus*

活性均达到最高值,随后各处理的 CarE 活性均急剧下降,如处理浓度为  $800 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  8 h 的 CarE 活性为  $7.1579 \mu\text{mol } \alpha\text{-naphthol}\cdot 15\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}\text{prot}$ ,至处理 48 h 后降为  $3.7531 \mu\text{mol } \alpha\text{-naphthol}\cdot 15\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}\text{prot}$ 。除 8 h 的  $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  与  $400 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  ( $P > 0.05$ ,  $F=70.60$ ,  $df=4$ , 10)、16 h 的  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  与  $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $400 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  与  $800 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  ( $P > 0.05$ ,  $F=49.35$ ,  $df=4$ , 10) 的差异不显著外,其余各处理在各处理时间段的 CarE 活性均存在显著性差异 ( $P < 0.05$ ),且随着处理浓度的提高 CarE 活性也增大。

2.7.3 BDMC 和 N-MPBDMC 对朱砂叶螨 CarE 活性影响的比较 BDMC 和 N-MPBDMC 对朱砂叶螨 CarE 活性的影响见图 10 和图 11。BDMC 和 N-MPBDMC 分别处理朱砂叶螨后,其体内解毒酶 CarE 活性均有所上升,其中 BDMC 处理朱砂叶螨后,CarE 活性上升了 1.43%—58.38%,平均上升了 26.78%,N-MPBDMC 处理朱砂叶螨后,CarE 活性上升了 6.76%—61.22%,平均上升了 25.98%。在相同处理条件下,CarE 的活性上升差异较大的为个别处理浓度和时间段,而非整体表现,CarE 活性上升的比值高于 2.00 的为 8 h 的  $400 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $800 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、36 h 的  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,分别为 2.15、2.35 和 7.01 倍,CarE 的活性上升的比值低于 0.50 的为 16 h 的  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,分别为 0.25 和 0.40,且 CarE 的活性平均上升程度均较强,但差异不明显。

### 3 讨论

大多数杀螨剂的作用机制是通过干扰神经系统的正常生理功能来发挥致死作用的。神经细胞间的化学信息的传递主要依靠神经递质物质的合成与分解来实现的,已经被公认为神经递质的化学物质如乙酰胆碱、 $\gamma$ -氨基丁酸、章鱼胺等,其中一些催化神经递质物质的合成和分解的酶或神经递质物质的受体已被证实是一些杀螨剂的靶标<sup>[22]</sup>。AchE 是神经系统的重要酶系之一,可催化神经递质物质乙酰胆碱的分解,从而终止神经兴奋的传导,维持正常神经系统功能,一旦该酶活性显著降低,会促使生物体过度兴奋后死亡。 $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 是一种重要的膜蛋白酶,在物质运送、能量转换及信息传递方面具有举足轻重的作用,尤其对维持细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  的稳定,保持细胞内外  $\text{Ca}^{2+}$  的平衡及神经细胞的兴奋和传导起到非常重要的作用,一旦该酶活性显著降低将引起一系列的神经系统、生理及生殖系统的病变<sup>[23-24]</sup>。MAO 也是影响神经系统功能的

重要酶系之一,可催化降解一些神经单胺类递质物质如多巴胺,章鱼胺等,一旦该酶活性显著降低,会使神经胺积累起来从而导致神经传递的阻断,引起一系列生理病变直至死亡。本研究表明,BDMC 和 N-MPBDMC 处理朱砂叶螨后其体内 AchE、 $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 和 MAO 活性均有不同程度的下降,结合症状观察,显示为神经系统受到一定的损伤,可能导致正常的神经信号传递受阻致螨死亡。近年来,也有一些报道关于植物提取物或者植物源化合物处理朱砂叶螨后,其体内的 AchE、 $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 和 MAO 活性降低。如王有年等报道篇蓄氯仿提取物的柱层析第 16 流分处理朱砂叶螨后,其体内 AchE 活性显著降低,并对神经系统有一定的破坏作用<sup>[25]</sup>;梁为等报道植物源杀螨活性化合物东莨菪素处理朱砂叶螨后,致毒症状表现为神经毒剂的症状,如兴奋、痉挛等,活体和离体的 AchE 和 MAO 活性均有所下降<sup>[6]</sup>;段丹丹等发现羽扇豆醇处理朱砂叶螨后,其体内  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性显著降低,是导致朱砂叶螨死亡的重要因素之一<sup>[7]</sup>;王燕等研究发现牵牛子石油醚提取物柱层析流分 8 处理朱砂叶螨后,其体内的 AchE、MAO 和  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性均有不同程度下降,这可能引起神经传递的阻断,从而导致螨体的死亡<sup>[26]</sup>。推测这些植物源杀螨活性物质对朱砂叶螨均有神经毒性。

所有生物体都有一套抵抗外源或内源有毒物质的防御系统<sup>[27]</sup>,其中 GSTs 在这套系统中发挥着重要的作用,能催化生物体内的还原型谷胱甘肽与有毒化合物的亲电子基团发生轭合,最终形成硫醚氨酸排出体外,从而降低它们的细胞毒性。当外源有毒物质进入生物体后,其体内 GSTs 活性迅速上升启动解毒功能来保护机体免受损害。CarE 属于  $\alpha/\beta$  折叠丝氨酸水解酶家族,可催化水解代谢众多药物、环境毒物和内源化合物,还可参与脂质的运输和代谢<sup>[28]</sup>,以及作为结合蛋白,保护 AchE 免受破坏。本研究中,当 BDMC 和 N-MPBDMC 处理朱砂叶螨后,其体内 GSTs 和 CarE 活性显著上升,表明这 2 种化合物对朱砂叶螨产生了毒害作用,机体启动防御系统功能进行解毒代谢以维持正常的生理机能,但随着处理时间的延长,其活性逐渐降低,导致有毒物质的积累,进一步破坏机体生理系统,最终致螨类死亡。这与刘素琪等研究大戟狼毒石油醚提取物中最佳杀螨活性流分 11 (EFPE-11) 对朱砂叶螨 GSTs 的影响是一致的<sup>[29]</sup>。曹挥等研究河朔莨菪的最佳杀螨活性流分 WCME-11 处理山楂叶螨后,其体内的 CarE 活性也表现为上升<sup>[30]</sup>。

植物源杀螨活化合物往往从多作用位点对靶标生物产生影响,生物体对外源有害物的解毒代谢机制也是多方面的,各生化指标间并不是独立的,而是相互联系、互为补充的<sup>[31]</sup>。本试验中 BDMC 和 N-MPBDMC 分别处理朱砂叶螨后,其体内的 3 种神经系统酶活性均显著降低,具体的作用靶标还有待于进一步确证。

## 4 结论

N-MPBDMC 对朱砂叶螨雌成螨的触杀活性优于先导化合物 BDMC 其 72 h 毒力与 95%啮螨灵原药的相当。两者处理朱砂叶螨雌成螨后,中毒症状表现为类似神经毒剂的致毒症状,其体内 GSTs 和 CarE 活性均有不同程度的上升,AchE、Ca<sup>2+</sup>-ATPase 和 MAO 活性均有不同程度的下降,其中 BDMC 处理朱砂叶螨后, Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性下降最为显著,平均下降了 17.55%, N-MPBDMC 处理朱砂叶螨后, AchE 活性下降最为显著,平均下降了 36.57%, Ca<sup>2+</sup>-ATPase 和 AchE 是否为靶标酶还有待进一步确证。

## References

- [1] 吾玛尔·阿布力孜, 孜比妮沙·吾布力, 阿布都拉·阿巴斯. 我国螨类研究的最新进展. 生物学通报, 2009, 44(4): 12-15.  
Abliz O, Goby Z, Abbas A. Recent progress of study on mites of our country. *Bulletin of Biology*, 2009, 44(4): 12-15. (in Chinese)
- [2] Ansaloni T, Pascual-Ruiz S, Hurtado M A, Jacas J A. Can summer and fall vegetative growth regulate the incidence of *Tetranychus urticae* Koch on clementine fruit? *Crop Protection*, 2008, 27(3/5): 459-464.
- [3] He L, Xue C H, Wang J J, Li M, Lu W C, Zhao Z M. Resistance selection and biochemical mechanism of resistance to two acaricides in *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2009, 93(1): 47-52.
- [4] 刘波, 桂连友. 我国朱砂叶螨研究进展. 长江大学学报(自然科学卷), 2007, 4(3): 9-12.  
Liu B, Gui L Y. Research development of *Tetranychus cinnabarinus* from our country. *Journal of Yangtze University: Natural Science Edition: Agricultural Science Volume*, 2007, 4(3): 9-12. (in Chinese)
- [5] 梁为, 师光禄, 成军, 卜春亚, 靳永胜, 王有年, 王战全. 瑞香狼毒中 3 种杀螨活性成分的致死规律. 中国农学通报, 2011, 27(9): 372-376.  
Liang W, Shi G L, Cheng J, Bu C Y, Jin Y S, Wang Y N, Wang Z Q. Study on mortality law of three kinds of acaricidal active ingredients extracted from *Stellera chamaejasme* L. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2011, 27(9): 372-376. (in Chinese)
- [6] 梁为, 白雪娜, 马兰青, 师光禄, 王有年. 东莨菪素对朱砂叶螨的毒力及杀螨机理初探. 广东农业科学, 2011(8): 68-71.  
Liang W, Bai X N, Ma L Q, Shi G L, Wang Y N. Preliminary study on scopoletin toxicity to *Tetranychus cinnabarinus* and its acaricidal mechanism. *Guangdong Agricultural Science*, 2011(8): 68-71. (in Chinese)
- [7] 段丹丹, 王有年, 成军, 全宝生, 师光禄. 旋覆花提取物对朱砂叶螨的生物活性及酶活性的影响. 生态学报, 2011, 31(8): 2203-2208.  
Duan D D, Wang Y N, Cheng J, Tong B S, Shi G L. The toxicity of lupeol of *Inula britannica* on *Tetranychus cinnabarinus* and its effects on mite enzyme activity. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(8): 2203-2208. (in Chinese)
- [8] 杜娟, 赵磊, 师光禄, 王有年. 棕榈油酸甲酯对朱砂叶螨生物活性的影响. 北京农学院学报, 2010, 25(2): 25-28.  
Du J, Zhao L, Shi G L, Wang Y N. Acarocidal activity of methyl cis-9-hexadecenoate against *Tetranychus cinnabarinus*. *Journal of Beijing University of Agriculture*, 2010, 25(2): 25-28. (in Chinese)
- [9] Ahsan H, Parveen N, Khan N U, Hadi S M. Pro-oxidant, anti-oxidant and cleavage activities on DNA of curcumin and its derivatives demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. *Chemico-Biological Interactions*, 1999, 121(2): 161-175.
- [10] Jayaprakasha G K, Rao L J, Sakariah K K. Antioxidant activities of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. *Food Chemistry*, 2006, 98(4): 720-724.
- [11] Kim A N, Jeon W K, Lee J J, Kim B C. Up-regulation of heme oxygenase-1 expression through CaMKII-ERK1/2-Nrf2 signaling mediates the anti-inflammatory effect of bisdemethoxycurcumin in LPS-stimulated macrophages. *Free Radical Biology and Medicine*, 2010, 49(3): 323-331.
- [12] Yodkeeree S, Chaiwangyen W, Garbisa S, Limtrakul P. Curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin differentially inhibit cancer cell invasion through the down-regulation of MMPs and uPA. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2009, 20(2): 87-95.
- [13] Jang E M, Choi M S, Jung U J, Kim M J, Kim H J, Jeon S M, Shin S K, Seong C N, Lee M K. Beneficial effects of curcumin on hyperlipidemia and insulin resistance in high-fat-fed hamsters. *Metabolism Clinical and Experimental*, 2008, 57(11): 1576-1583.
- [14] Matsunaga T, Endo S, Soda M, Zhao H T, Ei-Kabbani O, Tajima K, Hara A. Potent and selective inhibition of the tumor marker AKR1B10 by bisdemethoxycurcumin: Probing the active site of the enzyme with molecular modeling and site-directed mutagenesis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2009, 389(1): 128-132.

- [15] 张永强, 丁伟, 赵志模, 王进军, 廖涵杰. 姜黄对朱砂叶螨的生物活性. *植物保护学报*, 2004, 31(4): 390-394.  
Zhang Y Q, Ding W, Zhao Z M, Wang J J, Liao H J. Research on acaricidal bioactivities of turmeric, *Curcuma longa*. *Acta Phytopylacica Sinica*, 2004, 31(4): 390-394. (in Chinese)
- [16] 张永强, 丁伟, 赵志模. 姜黄素类化合物对朱砂叶螨的生物活性. *昆虫学报*, 2007, 50(12): 1304-1308.  
Zhang Y Q, Ding W, Zhao Z M. Biological activities of curcuminoids against *Tetranychus cinnabarinus* Boisduval (Acari: Tetranychidae). *Acta Entomologica Sinica*, 2007, 50(12): 1304-1308. (in Chinese)
- [17] Busvine J R. *Recommended Methods for Measurement of Pest Resistance to Pesticides*. Rome, Italy: FAO Plant Production and Protection Paper, 1980: 49-54.
- [18] 深见顺一. 农药实验法-杀虫剂篇. 北京: 农业出版社, 1981: 101-102.  
Junichi F. *Pesticide Experiment-Insecticide Article*. Beijing: Agriculture Press, 1981:101-102. (in Chinese)
- [19] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72: 248-254.
- [20] Ellman G L, Courtney K D, Andres Jr. V, Featherstone R M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 1961, 7(2): 88-90.
- [21] Van Asperen K. A study of housefly esterase by means of a sensitive colorimetric method. *Journal of Insect Physiology*, 1962, 8(3): 401-416.
- [22] Dekeyser M A, Downer R. G. Biochemical and physiological targets for miticides. *Pesticide Science*, 1994, 40(2): 85-101.
- [23] 王镜岩, 朱圣庚, 徐长法. 生物化学. 北京: 高等教育出版社, 1999: 39-44.  
Wang J Y, Zhu S G, Xu C F. *Biochemistry*. Beijing: Higher Education Press, 1999: 39-44. (in Chinese)
- [24] 刘素媛, 孙黎光, 邢伟, 万伯建. 慢性染铅对大鼠海马区神经细胞  $Ca^{2+}$  浓度及  $Ca^{2+}$ -ATP 酶活性的影响. *卫生毒理学杂志*, 1999, 13(1): 16-17.  
Liu S Y, Sun L G, Xing W, Wan B J. The effect of chronic lead exposure on hippocampal intraneuronal  $[Ca^{2+}]$  and activity of  $Ca^{2+}$ -ATPase in rats. *Journal of Health Toxicology*, 1999, 13(1): 16-17. (in Chinese)
- [25] 王有年, 李青, 李照会, 师光禄. 篇蓄提取物对朱砂叶螨的触杀活性及相关酶活性的影响. *林业科学*, 2010, 46(10): 103-107.  
Wang Y N, Li Q, Li Z H, Shi G L. Acaricidal activities of *Polygonum aviculare* extracts against *Tetranychus cinnabarinus* and their effects on enzyme activities in the mite. *Scientia Silvae Sinicae*, 2010, 46(10): 103-107. (in Chinese)
- [26] 王燕, 吴振宇, 杜艳丽, 师光禄, 陈梅, 王海香, 王有年. 牵牛子种子提取物对朱砂叶螨触杀活性的测定. *中国农业科学*, 2009, 42(8): 2973-2800.  
Wang Y, Wu Z Y, Du Y L, Shi G L, Chen M, Wang H X, Wang Y N. Acaricidal activity of an extract of *Pharbitis purpurea* seeds against *Tetranychus cinnabarinus*. *Scientia Agricultura Sinica*, 2009, 42(8): 2973-2800. (in Chinese)
- [27] Kohen R, Nyska A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology*, 2002, 30(6): 620-650.
- [28] 滕霞, 孙曼雯. 羧酸酯酶研究进展. *生命科学*, 2003, 15(1): 31-35.  
Teng X, Sun M W. Advances on carboxylesterase research. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2003, 15(1): 31-35. (in Chinese)
- [29] 刘素琪, 顾雅静, 王海香, 董海龙, 师光禄, 曹挥. 大戟狼毒对朱砂叶螨的毒性作用. *林业科学*, 2010, 46(10): 91-94.  
Liu S Q, Gu Y J, Wang H X, Dong H L, Shi G L, Cao H. Acaricidal actions of *Euphorbia fischeriana* against *Tetranychus cinnabarinus*. *Scientia Silvae Sinicae*, 2010, 46(10): 91-94. (in Chinese)
- [30] 曹挥, 王有年, 张铁强, 赵莉茵, 刘素琪, 师光禄. 河朔菱花对山楂叶螨作用机制的初步研究. *林业科学*, 2007, 43(8): 65-70.  
Cao H, Wang Y N, Zhang T Q, Zhao L L, Liu S Q, Shi G L. Acaricidal actions of *Wikstroemia chamedaphne* against *Tetranychus viennensis*. *Scientia Silvae Sinicae*, 2007, 43(8): 65-70. (in Chinese)
- [31] 师光禄, 王有年, 王鸿雷, 赵莉茵, 刘素琪, 曹挥, 于同泉, 路苹. 万寿菊根提取物对山楂叶螨谷胱甘肽 S-转移酶和蛋白酶及蛋白质含量的影响. *应用生态学报*, 2007, 18(2): 400-404.  
Shi G L, Wang Y N, Wang H L, Zhao L L, Liu S Q, Cao H, Yu T Q, Lu P. Effects of *Tagetes erecta* extracts on glutathione S-transferase and protease activities and protein content in *Tetranychus viennensis*. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2007, 18(2): 400-404. (in Chinese)

(责任编辑 岳梅)