

镉和铬急性染毒对中华稻蝗解毒酶及多酚氧化酶的影响

刘耀明¹, 杨慧敏¹, 张育平^{1,3}, 吴海花¹, 张建珍¹, 马恩波¹, 郭亚平^{2*}

(1.山西大学应用生物学研究所, 太原 030006; 2.山西大学生命科学学院, 太原 030006; 3.太原师范学院生物系, 太原 030031)

摘要:为了解重金属对生物体营养物质的消化、吸收、代谢以及对昆虫的毒性效应,研究了重金属镉和铬急性染毒对中华稻蝗5龄若虫几种代谢解毒酶及多酚氧化酶活性的影响。研究结果显示:高浓度镉和铬分别在48 h和72 h激活CarE活性;当镉处理中华稻蝗96 h后,体内ACP活性下降;铬染毒72 h后,AKP活性升高,而铬作用24 h和48 h后,ACP活性表现为在低浓度处理组中被激活,高浓度处理组中被抑制;镉处理48 h后,GST活性升高,铬处理72 h和96 h,GST有升高的趋势;镉处理24 h和铬处理96 h后PPO活性降低。这些结果表明,镉和铬染毒后,中华稻蝗体内代谢解毒酶及多酚氧化酶活性发生变化,这种变化与重金属的浓度及作用时间密切相关。

关键词:镉;铬;代谢酶;多酚氧化酶;中华稻蝗

中图分类号:X503.223 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2013)07-1321-07 doi:10.11654/jaes.2013.07.006

Acute Effects of Cd²⁺ and Cr⁶⁺ on Detoxification Enzymes and Polyphenol Oxidase in *Oxya chinensis*

LIU Yao-ming¹, YANG Hui-min¹, ZHANG Yu-ping^{1,3}, WU Hai-hua¹, ZHANG Jian-zhen¹, MA En-bo¹, GUO Ya-ping^{2*}

(1.Istitute of Applied Biology, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; 2.School of Life Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; 3.Biology Department of Taiyuan Normal University, Taiyuan 030031, China)

Abstract: Acute effects of Cd²⁺ and Cr⁶⁺ on detoxification enzymes and polyphenol oxidase(CarE, GST, ACP, AKP and PPO) in 5th instar nymphs of *Oxya chinensis* were studied under laboratory control condition. The results showed that CarE activities were activated after insects were exposed to the highest concentration of Cd²⁺(7.08 mg·kg⁻¹) for 48 h and Cr⁶⁺(3.40 mg·kg⁻¹) for 72 h, respectively. ACP activity was inhibited by Cd²⁺ at 96 h. AKP activity increased-in exposed to Cr⁶⁺ for 72 h. However, ACP activity increased at the lower concentration of 1.80 mg·kg⁻¹ Cr⁶⁺ and declined at the higher concentration of 3.40 mg·kg⁻¹ Cr⁶⁺ at 24 h and 48 h. GST activites were increased by Cd²⁺ at 48 h and by Cr⁶⁺ at 72 h and 96 h, respectively. PPO activities were decreased by Cd²⁺ at 24 h and by Cr⁶⁺ at 96 h, respectively. These results indicated that detoxification enzymes and polyphenol oxidase activity changed in response to toxic effects of heavy metal(Cd and Cr), while the changes were related with the exposed dose and time of heavy metal.

Keywords:Cd; Cr; detoxification enzyme; polyphenol oxidase; *Oxya chinensis*

随着工业化和城市化的进程,重金属污染已成为一个严重的环境问题,日益受到人们的关注。重金属不仅污染生态系统,还可以通过植物吸收,在食物链中转移和积累^[1],对动物体及人类产生毒害作用^[2-3]。昆虫作为自然界中最大的生物类群,重金属在其体内的富集及对生理功能的影响受到众多学者的重视。羧酸酯酶(Carboxylesterase, CarE)、磷酸酶(Acid phosphatase,

ACP 和 Alkaline phosphatase, AKP)、谷胱甘肽 S-转移酶(Glutathione S-transferases, GST)是昆虫体内重要的代谢解毒酶系,可以参与各种外源化合物的水解、氧化、还原和轭合等代谢过程。羧酸酯酶具有底物专一性,能催化水解脂肪族羧酸酯、芳酸酯及相应的硫代酯等多种化合物;磷酸酶又称磷酸单酯水解酶,分为酸性磷酸酶(ACP)和碱性磷酸酶(AKP),可以催化昆虫体内各种含磷化合物的水解;谷胱甘肽 S-转移酶(GST)可以催化 GSH 的巯基与一些有害的亲电基团结合,增加其疏水性使其易于穿透细胞膜,逐渐分解后最终排出体外,保护 DNA 和蛋白质免受损伤,从而发挥解毒作用。多酚氧化酶(Polyphenol oxidase,

收稿日期:2013-01-11

基金项目:国家自然科学基金项目(31071980);山西省自然科学基金项目(2011011033-1)

作者简介:刘耀明(1980—),男,山西柳林人,在读博士,研究昆虫毒理学。E-mail:liuyaoming1022@163.com

*通信作者:郭亚平 E-mail:guoyp1955@163.com

PPO)是一种分布于昆虫表皮和血淋巴中的含铜蛋白质,是昆虫体内黑色素合成的关键酶,在昆虫免疫反应中起着关键作用^[3-4]。重金属等外源物质进入昆虫体内后通过对上述酶系的影响,造成代谢紊乱,从而影响其正常的生理生化过程^[5]。因此,研究重金属对各种酶系的影响,对了解重金属对生物体营养物质的消化、吸收、代谢以及对昆虫的毒性效应具有重要意义。

国内外关于重金属对动物体代谢酶及多酚氧化酶的影响已有一些报道。Rosabal 等^[6]研究了重金属对摇蚊代谢酶和亚细胞形态的影响。Wilczek 等^[7]研究发现,低浓度 Zn 未引起步甲(*Pardosa cupreus*)CarE 活性的显著变化,高浓度 Zn 则能抑制 CarE 活性。Kedzierski 等^[8]的研究发现,生活在重金属污染区的蟋蟀(*Acheta domesticus*)不同发育阶段 GST 活性呈现不稳定变化。樊廷俊等^[9]发现 Cu 能抑制中国对虾(*Penaeus chinensis*)体内多酚氧化酶的活性,而 Mg 能激活多酚氧化酶的活性。一定浓度 Cd 作用于蛤蜊后,ACP 活性在 3 d 内保持不变,从第 5 d 起其活性开始增加,而 AKP 活性与 Cd 处理无显著相关关系。

本实验室对重金属镉和铬在中华稻蝗(*Oxya chinensis*)体内的累积及其对抗氧化系统的影响进行了一些研究^[10-12],但就这两种重金属对其代谢解毒酶及多酚氧化酶的影响还未进行研究。因此,本文采用镉和铬急性染毒探讨两种重金属对中华稻蝗几种代谢解毒酶(CarE、GST、ACP 及 AKP)及多酚氧化酶活性的影响,为重金属毒理学研究提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

实验试用中华稻蝗卵于 2011 年 11 月采自山西省太原市晋祠水稻种植区。将蝗卵放入人工气候箱(23 °C–14 h 黑暗/29 °C–10 h 光照,70% 湿度)内孵化,10 d 后将刚孵化出的若虫放入纱笼(40 cm × 29 cm × 29 cm)内,置于人工气候箱,饲喂新鲜小麦苗,饲喂至五龄若虫时进行急性实验处理。

1.2 主要化学试剂与仪器

氯化镉(CdCl₂·2.5H₂O,分析纯,天津化工三厂);重铬酸钾(K₂Cr₂O₇,分析纯,天津化工三厂);α-萘酚(α-NA,上海生工生物工程有限公司);1-氯-2,4 二硝基苯(CDNB,上海生工生物工程有限公司);ACP/AKP 试剂盒(南京建成生物公司);邻苯二酚(上海生工生物工程有限公司);牛血清蛋白(BSA,Bio-Rad 公司)。DY89-II 型电动玻璃匀浆机(宁波新芝生物科技

股份有限公司),Spectra MAX 190 型酶标仪(美国 Molecular Device 公司)。

1.3 急性染毒

参照本实验室前期测定的镉和铬的 24 h LC₅₀ 值,并根据稻蝗五龄若虫平均体重,分别设镉(3.54、7.08 mg·kg⁻¹)和铬(1.80、3.40 mg·kg⁻¹)2 个处理,以蒸馏水为对照。将 4 μL 各浓度上述溶液从中华稻蝗五龄若虫 2~3 腹节处注射到体腔内,对照及每个处理设 3 个生物学重复,注射雌、雄若虫各 50 头。染毒后分别在 24、48、72、96 h 随机取样(雌、雄虫各 10 头),整虫冻存于-80 °C 冰箱待测。

1.4 酶液提取及酶活测定

将冻存的对照组和处理组样品各 20 头(10 头雌虫、10 头雄虫),称重后置于已灭菌的匀浆器内,按 1:9(m/V)的比例加入缓冲液,在冰浴中匀浆,匀浆所得液于 4 °C,15 000×g 离心 20 min,将上清液冻存作为酶液备用。

羧酸酯酶活性测定:参照朱坤炎等^[13]的测定方法,以 α-NA 为底物,在 15 μL 酶液中加入 135 μL 0.3 mmol·L⁻¹ 的底物溶液,底物缓冲液中加入 10⁻⁵ mol·L⁻¹ 毒扁豆碱,37 °C 温育 30 min,加入 50 μL 固蓝 B-SDS 溶液终止反应,室温放置 15 min,用酶标仪(Spectra MAX 190)在 600 nm(α-NA)测定 OD 值。

酸性磷酸酯酶、碱性磷酸酯酶活性测定:根据试剂盒说明书的方法进行酶活测定。

谷胱甘肽 S-转移酶活性测定:以 CDNB 为底物,根据朱坤炎等^[14]的方法稍加改进后进行测定。取 10 μL 适当稀释的酶液与 190 μL 200 mmol·L⁻¹ 还原性谷胱甘肽和 10.35 mmol·L⁻¹ 的 CDNB 混合液(GSH:CDNB=188:2)混合,对照组以 10 μL 缓冲液代替酶液。用酶标仪在 340 nm 处每隔 10 s 计数 1 min,记录 OD 值。CDNB 的摩尔消光系数分别为 9.6、10.0 (mmol·L⁻¹)⁻¹·cm⁻¹。

多酚氧化酶活性测定:参照 Ishaay 等^[15]的方法。取 6.7 μL 酶液、100 μL 0.2 mol·L⁻¹ 邻苯二酚和 100 μL 0.05 mol·L⁻¹ 磷酸缓冲液(pH 6.8)混匀,于 25 °C 水浴中振荡反应 15 min,于 420 nm 处测定 OD 值,酶活力以 OD·mg⁻¹ prot·min⁻¹ 表示。

1.5 数据分析

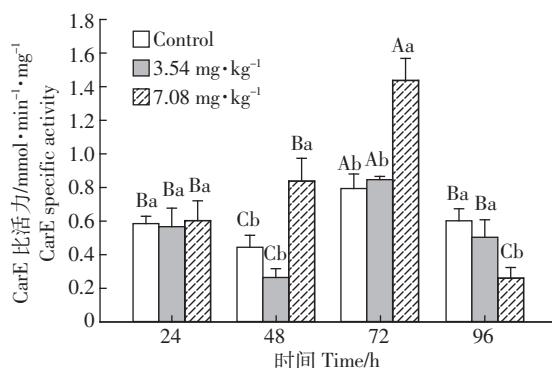
实验结果以平均值±标准误(mean±S.E.)表示,采用 SPSS 11.5 统计软件对结果进行方差分析(ANOVA)与多重比较(LSD 法),运用 SigmaPlot 软件绘图。

2 结果

2.1 镉和铬对中华稻蝗 CarE 活性的影响

2.1.1 镉对中华稻蝗 CarE 活性的影响

从图 1 可以看出,用不同浓度镉溶液处理中华稻蝗 24 h 后,CarE 活性无显著变化,处理 48 h 和 72 h 后,高浓度处理组的活性显著高于对照组和低浓度处理组,当处理 96 h 后,高浓度处理组活性显著低于对照组,是对照组的 0.43 倍。当用低浓度镉溶液处理中华稻蝗不同时间,CarE 活性呈现 48 h 降低,72 h 升高,96 h 降低的趋势。当用高浓度镉溶液处理蝗虫不同时间,CarE 活性呈现先升高后降低的趋势。



图中数值为算术平均数±标准误;不同小写字母表示同一时间不同浓度间的差异性显著($P<0.05$);不同大写字母表示同一浓度不同时间的差异性显著($P<0.05$)。下同

图 1 Cd 处理对中华稻蝗 CarE 活性的影响

Figure 1 Effect of Cd on CarE activity in *Oxya chinensis*

2.1.2 铬对中华稻蝗 CarE 活性的影响

从图 2 可以看出,用不同浓度铬溶液处理中华稻蝗 24、48 h 和 96 h 后,各处理间 CarE 活性均无显著变化,当处理 72 h 后,高浓度处理组的活性显著高于

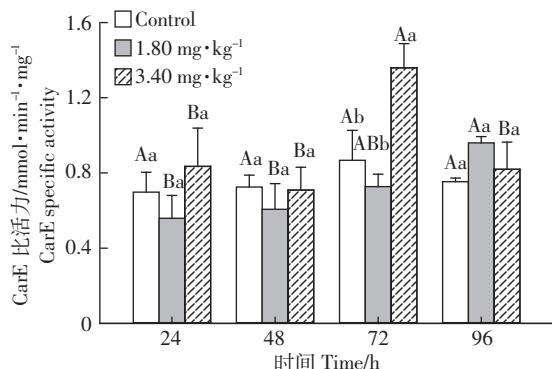


图 2 Cr 处理对中华稻蝗 CarE 活性的影响

Figure 2 Effect of Cr on CarE activity in *Oxya chinensis*

对照组和低浓度处理组,分别是各自活性的 1.56 倍和 1.86 倍,高浓度铬可以激活 CarE 的活性。随着时间的延长,相同浓度处理组 CarE 活性有上升的趋势。

2.2 镉和铬对中华稻蝗 ACP 活性的影响

2.2.1 镉对中华稻蝗 ACP 活性的影响

经 ANOVA 数据分析结果(图 3)显示,镉处理中华稻蝗 24、48 h 时,ACP 活性在不同处理浓度间无显著差异,72 h 时低浓度处理组 ACP 活性略有提高,但与对照和高浓度组间差异不显著($P>0.05$)。处理组 ACP 活性显著降低($P<0.05$),两个处理组之间无显著差异($P>0.05$)。

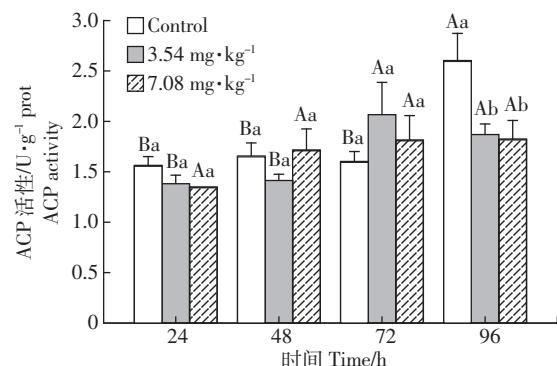


图 3 Cd 处理对中华稻蝗 ACP 活性的影响

Figure 3 Effect of Cd on ACP activity in *Oxya chinensis*

2.2.2 铬对中华稻蝗 ACP 活性的影响

不同浓度铬溶液处理中华稻蝗 24 h 和 48 h 后,与对照相比处理组 ACP 活性显著升高($P<0.05$),且均表现为低浓度处理组($1.80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)活性升高幅度较大,高浓度处理组($3.40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)较低浓度处理组活性降低的趋势;处理 72 h 和 96 h 后,各浓度处理之间不存在显著差异(图 4)。整体来看,铬处理后 ACP 活性在 48 h 时达到最高值,之后趋于稳定。

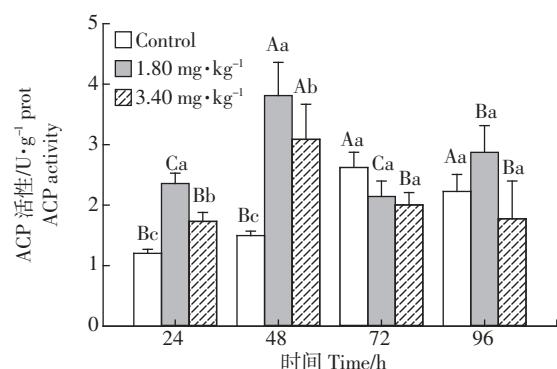


图 4 Cr 处理对中华稻蝗 ACP 活性的影响

Figure 4 Effect of Cr on ACP activity in *Oxya chinensis*

2.3 镉和铬对中华稻蝗 AKP 活性的影响

2.3.1 镉对中华稻蝗 AKP 活性的影响

镉处理中华稻蝗后,低浓度($3.54 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)处理组在处理不同时间后对 AKP 活性无显著影响(图5)。高浓度处理组($7.08 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)AKP 活性在 24、48 h 时无变化,在处理 72 h 时出现最大值,而在 96 h 时又显示下降趋势。不同浓度处理之间无显著差异($P > 0.05$)。

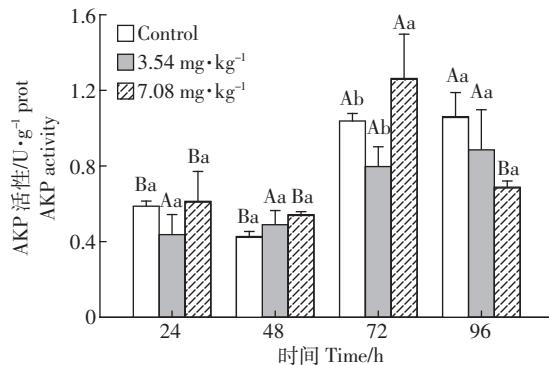


图 5 Cd 处理对中华稻蝗 AKP 活性的影响

Figure 5 Effect of Cd on AKP activity in *Oxya chinensis*

2.3.2 铬对中华稻蝗 AKP 活性的影响

不同浓度铬处理中华稻蝗 24 h 时,低浓度处理组($1.80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)AKP 活性降低,高浓度处理组 AKP 活性升高,但差异不显著;处理 72 h 时,处理组 AKP 活性与对照相比显著升高($P < 0.05$),且高浓度处理组($3.40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)中 AKP 活性随着时间的延长有升高趋势(图 6)。

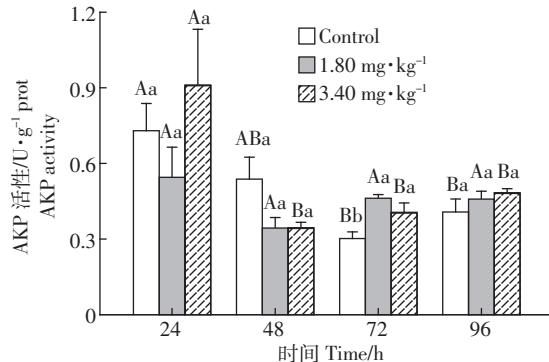


图 6 Cr 处理对中华稻蝗 AKP 活性的影响

Figure 6 Effect of Cr on AKP activity in *Oxya chinensis*

2.4 镉和铬对中华稻蝗 GST 活性的影响

2.4.1 镉对中华稻蝗 GST 活性的影响

由图 7 可以看出,镉处理中华稻蝗后,GST 活性随时间延长先上升后下降,处理 24 h 时 GST 活性在

不同处理浓度间无显著差异($P > 0.05$)。处理 48 h 后,高浓度处理组 GST 活性显著升高($P < 0.05$);处理 72 h 时,随着镉处理浓度的升高,GST 活性显著上升($P < 0.05$),96 h 时各处理组 GST 活性下降。

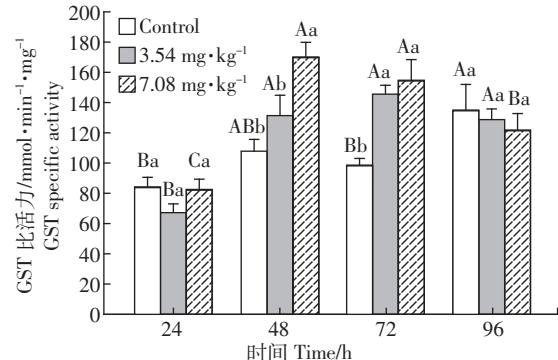


图 7 Cd 处理对中华稻蝗 GST 活性的影响

Figure 7 Effect of Cd on GST activity in *Oxya chinensis*

2.4.2 铬对中华稻蝗 GST 活性的影响

ANOVA 结果显示,铬处理中华稻蝗后 GST 活性呈现先下降后上升趋势。处理 24 h 时,处理组 GST 活性下降,高浓度处理组($3.40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)与对照组相比存在显著差异($P < 0.05$)。处理 72 h 后,GST 活性升高(图 8)。

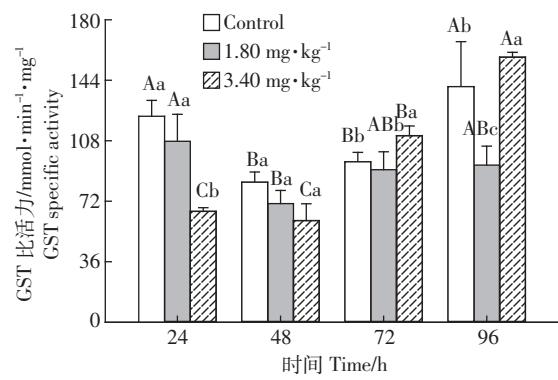


图 8 Cr 处理对中华稻蝗 GST 活性的影响

Figure 8 Effect of Cr on GST activity in *Oxya chinensis*

2.5 镉和铬对中华稻蝗 PPO 活性的影响

2.5.1 镉对中华稻蝗 PPO 活性的影响

由图 9 可以看出,镉处理 24 h 后,处理组 PPO 活性随着镉浓度的升高显著降低($P < 0.05$),处理 24~72 h 内 PPO 活性在不同镉处理浓度之间无显著差异($P > 0.05$)。

2.5.2 铬对中华稻蝗 PPO 活性的影响

ANOVA 分析显示,处理 24 h 后,高浓度处理组 PPO 活性与对照组相比显著升高($P < 0.05$);处理 96

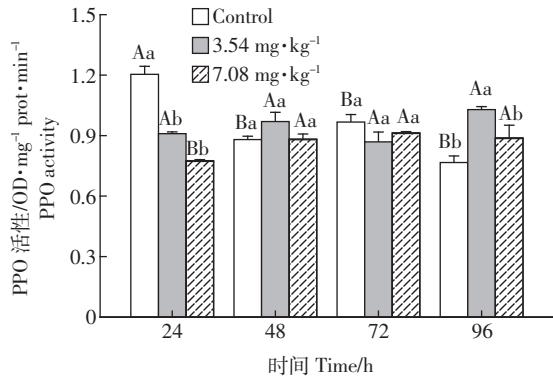


图9 Cd处理对中华稻蝗PPO活性的影响

Figure 9 Effect of Cd on PPO activity in *Oxya chinensis*

h, 高浓度处理组 PPO 活性与对照组相比显著降低 ($P<0.05$)。随着处理时间的延长, 高浓度铬处理组 ($3.40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 中 PPO 活性呈现逐渐升高趋势 (图 10)。

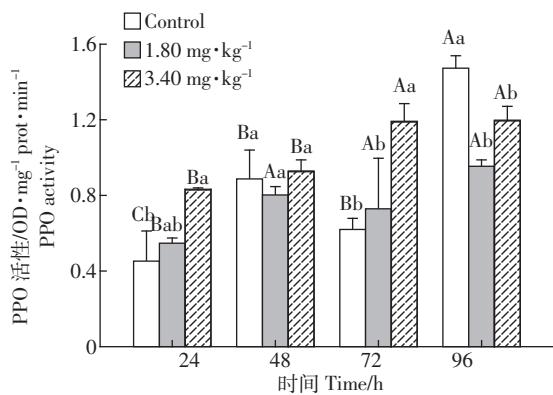


图10 Cr处理对中华稻蝗PPO活性的影响

Figure 10 Effect of Cr on PPO activity in *Oxya chinensis*

3 分析与讨论

外源毒物进入昆虫体内需要经过氧化、还原、水解等多种方式降解, 然后将代谢物排出体外, 这些过程都需要由一系列酶系催化完成。羧酸酯酶、酸性磷酸酶、碱性磷酸酶和谷胱甘肽 S-转移酶都是昆虫体内重要的代谢解毒酶系^[16], 它们在不同时间、不同组织部位参与昆虫对内源或异源有毒物质的代谢解毒^[17]。本文分析了镉和铬急性处理后中华稻蝗上述代谢解毒酶及多酚氧化酶活性的影响。

研究结果显示, 高浓度镉和铬急性处理 72 h 后, CarE 活性升高, 表明镉可以直接或间接地激活 CarE, 但是, 这种激活作用并未一直持续, 随着作用时间的延长, 到 96 h 时 CarE 活性被抑制。Wilczek 等^[18]的研究结果显示, 三角皿蛛 (*Linyphia triangularis*) 和十字

园蛛 (*Araneus diadematus*) 受镉胁迫时体内羧酸酯酶活性显著升高。Sun 等^[19]研究表明低浓度镍 ($\leq 5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 暴露抑制了斜纹夜蛾 (*Prodenia litura*) 五龄幼虫 CarE 的活性, 而高浓度镍 ($\geq 10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 会导致其体内 CarE 活性升高。Augustyniak 等^[20]证明重金属污染相对较弱地区华北雏蝗 (*Chorthippus brunneus*) CarE 活性下降。这些研究结果显示, CarE 活性的变化与金属的种类、剂量、作用时间及昆虫种类有关。另外, 羧酸酯酶是一种水解酶, 它能催化水解脂肪族羧酸酯、芳酸酯及相应的硫代酯等多种化合物, 在有机磷杀虫剂的代谢中起着重要作用。杨美玲等^[21]研究表明, 昆虫对杀虫剂的抗性是由于体内羧酸酯酶活性的升高引起的, 高浓度镉和铬可以激活 CarE 活性, 该两种重金属与害虫有机磷杀虫剂抗药性的关系尚有待进一步研究。

磷酸酶在生物体内核苷酸、磷蛋白和磷脂的代谢中起着重要作用。本研究发现镉对中华稻蝗体内 AKP 活性有显著影响, 当镉作用于中华稻蝗 96 h 后, 体内 ACP 活性下降; 铬染毒 72 h 会引起 ACP 活性提高, 而铬作用 24 h 和 48 h 后, ACP 活性表现为在低浓度处理组中被激活, 高浓度处理组中被抑制。李少菁等^[22]研究表明, 重金属镉对日本对虾 [*Penaeus (Marsupenaeus) japonicus* Bate] 仔虾体内 AKP 活性有不同程度的抑制作用, 浓度越高抑制越明显; 而铬对 ACP 活性有激活作用, 且浓度增高, 激活作用增强。Milena 等^[23]用镉处理四龄舞毒蛾 (*Lymantria dispar*) 幼虫 3 d, ACP 活性下降。Bream A S 等^[24]研究表明重金属作用于水生昆虫负子蝽 (*Sphaerodema urinator* Duf.) 后, AKP 活性下降, ACP 活性升高。Monica D 等^[25]发现 *Hydropsyche sparna* 吸收的二价重金属离子可与体内原有的必需金属离子相互作用, 影响必需金属离子对解毒酶的调节功能, 从而导致试虫体内酶活性紊乱。

GST 能够催化还原性谷胱甘肽 (GSH) 的巯基与亲电化合物结合, 增加后者的可溶性, 有利于将其从细胞内排出, 同时其也参与清除由重金属引起的对机体有害的氧自由基, 保护机体免遭氧化压力的胁迫^[26]。本文结果显示, 镉可以激活中华稻蝗的 GST 活性, 低浓度铬在长时间内和高浓度铬在短时间内可以抑制中华稻蝗的 GST 活性。这些结果表明, GST 活性的变化与金属的种类、剂量以及作用时间密切相关。GST 活性的升高, 可能是昆虫的一种应激防御反应, 增强对重金属的解毒代谢, 以抵御由重金属引起的氧化损伤。

本研究结果显示, 镉处理中华稻蝗 24 h 后 PPO 活性受到了抑制, 处理 96 h 后 PPO 活性升高。而铬在 24 h 和 72 h 激活了 PPO 活性, 在 96 h 抑制了 PPO 活性。可见 PPO 对不同的重金属反应不同。薛超彬等^[27]研究表明, 重金属离子对菜青虫(*Pieris rapae*)PPO 活性有激活作用, 重金属也可能通过抑制害虫体内多酚氧化酶的活力, 使害虫“软化”致畸或丧失防御能力。重金属激活 PPO 可能是因为其能够促进底物与酶活性中心的亲和, 进而有利于 PPO 的催化反应, 实现激活效应, 也可能因为金属离子的电子云排布中有空轨道而能与酶分子的-OH、-COOH、-NH₂ 等基团形成配位作用, 导致酶活力增加^[28]。

综上所述, 镉和铬对中华稻蝗急性染毒后, 在作用不同时间后其体内的 CarE、ACP、AKP、GST 和 PPO 的活性受到了不同程度的影响, 在某种程度上可以激活一些相关解毒酶的活性, 从而增强机体的解毒能力, 降低或避免外源物对机体的损伤, 但重金属染毒后在中华稻蝗体内是否还有更为有效的解毒途径, 有待于进一步研究和探索。

4 结论

(1) 中华稻蝗可通过体内解毒酶的变化来应对镉的毒害作用, 高浓度重金属镉(7.08 mg·kg⁻¹)作用 24 h 时, 中华稻蝗体内 GST 活性升高, 作用 72 h 时 CarE、ACP 和 AKP 的活性升高。

(2) 铬急性处理中华稻蝗, 其体内 ACP 和 AKP 活性在短时间(24 h)内迅速产生应激反应而升高, 高浓度铬作用 72 h 后 CarE 和 GST 活性达到最高值。

(3) 中华稻蝗经镉和铬急性处理后, 其 PPO 活性略有上升, 但变化并不显著, 可见 PPO 对重金属的解毒作用不明显。

参考文献:

- [1] 李军, 梁吉哲, 刘侯俊, 等. Cd 对不同品种水稻微量元素累积特性及其相关性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2012, 31(3):441-447.
LI Jun, LIANG Ji-zhe, LIU Hou-jun, et al. Influence of Cd on microelements accumulation and their correlation in different rice cultivars of North-eastern China[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2012, 31(3):441-447.
- [2] Li Li-jun, Zhang Feng, Liu Xiao-mei, et al. Oxidative stress related enzymes in response to chromium (VI) toxicity in *Oxya chinensis* (Orthoptera: Acridoidea) [J]. *Journal of Environment Sciences*, 2005, 17(5):823-826.
- [3] Ashida M, Brey P T. Role of the integument in insect defense: Pro-phenol oxidase cascade in the cuticular matrix[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1995, 92:10698-10702.
- [4] Kawabata T, Yasuhara Y, Ochiai M, et al. Molecular cloning of insect pro-phenol oxidase: A copper containing protein homologous to arthropod hemocyanin[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1995, 92:7774-7778.
- [5] Jing H B, Wang Y, Kanost M R. Pro-phenol oxidase activating proteinase from an insect, *Manduca sexta*: A bacteria-inducible protein similar to *Drosophila* easter[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1998, 95:12220-12225.
- [6] Rosabal M, Hare L, Campbell P G. Subcellular metal partitioning in larvae of the insect *Chaoborus* collected along an environmental metal exposure gradient(Cd, Cu, Ni and Zn)[J]. *Aquat Toxicol*, 2012, 15:67-78.
- [7] Wilczek G, Kramarz P, Babczynska A. Activity of carboxylesterase and glutathione S-transferase in different life-stages of carabid beetle(*Pococillus cupreus*) exposed to toxic metal concentrations[J]. *Comp Biochem Physiol, Part C*, 2003, 134:501-512.
- [8] Kedzierski A, Nakonieczny M, Migula P, et al. Age-dependent activity patterns of carboxylesterases in insect exposed to cadmium[J]. *Stud Soc Sciantorum Torunensis*, 1996, 4:71-76.
- [9] 樊廷俊, 汪小锋. 中国对虾(*Penaeus chinensis*)酚氧化酶的分离纯化及其部分生物化学性质[J]. 生物化学与生物物理学报, 2002:589-594.
FAN Ting-jun, WANG Xiao-feng. Purification and partial biochemical characterization of phenoloxidase from *Penaeus chinensis*[J]. *Acta Biochimica Et Biophysica Sinica*, 2002:589-594.
- [10] 吴昊, 孙鸽, 吴海花, 等. 镉对中华稻蝗 4 龄若虫抗氧化酶的影响[J]. 四川动物, 2008, 5:829-831.
WU Hao, SUN Ge, WU Hai-hua, et al. Effect of cadmium on antioxidant enzymes of fourth-instar *Oxya chinensis*[J]. *Sichuan Journal of Zoology*, 2008, 5:829-831.
- [11] 李丽君, 郭亚平, 刘平, 等. 镉长期暴露对中华稻蝗抗氧化机制的影响[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(3):443-448.
LI Li-jun, GUO Ya-ping, LIU Ping, et al. Activity of antioxidant enzymes in response to cadmium in *Oxya Chinensis*[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(3):443-448.
- [12] 王跃, 李丽君, 张育平, 等. 铬在中华稻蝗(*Oxya chinensis*)体内的累积及对抗氧化系统的影响[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29:2281-2286.
WANG Yue, LI Li-jun, ZHANG Yu-ping, et al. Accumulation of chromium in *Oxya chinensis* and its effects on the antioxidant system[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29:2281-2286.
- [13] Zhu K Y, He F Q. Elevated esterases exhibiting arylesterase-like characteristics in an organophosphate-resistant clone of the greenbug, *Schizaphis graminum* (Homoptera: Aphididae)[J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2000, 67:155-167.
- [14] Zhu K Y, Gao J R, Starkey S K. Organophosphate resistance mediated by alterations of acetylcholinesterase in a resistant clone of the greenbug, *Schizaphis graminum* (Homoptera: Aphididae)[J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2000, 68:138-147.
- [15] Ishaaya I, Casida J E. Dietary TH 6040 alters composition and enzyme activity of housefly larval cuticle[J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 1974, 4:484-490.

- [16] 陈巧云,姜家良,林国芳,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[J].昆虫学报,1980,23:350-357.
CHEN Qiao-yun, JIANG Jia-liang, LIN Guo-fang, et al. Studies on the resistance of dipterex-resistant mosquito *Culex pipiens pallens* Coq.: On the relationship between hydrolase and resistance[J]. *Acta Entomologica Sinica*, 1980, 23: 350-357.
- [17] 宗 静,张 帆,孙广志,等.繁殖寄主对赤眼蜂羧酸酯酶和乙酰胆碱酯酶的影响[J].昆虫学报,2000,43(增刊):70-76.
ZONG Jing, ZHANG Fan, SUN Guang-zhi, et al. Effects of host eggs on characteristics of carboxylesterase and acetylcholinesterase in *Trichogramma*[J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2000, 43(Suppl): 70-76.
- [18] Wilczek G, Migula P. Metal body burdens and detoxifying enzymes in spiders from industrially polluted areas[J]. *Fresenius J Anal Chem*, 1996, 354: 643-647.
- [19] SUN Hong-xia, ZHOU Qiang, TANG Wen-cheng, et al. Effects of dietary nickel on detoxification enzyme activities in the midgut of *Spodoptera litura* Fabricius larvae[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2008, 53: 3324-3330.
- [20] Augustyniak M, Babczynska A, Migula P, et al. Joint effects of dimethoate and heavy metals on metabolic responses in a grasshopper (*Chorthippus brunneus*) from a heavy metals pollution gradient [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 2005, 141: 412-419.
- [21] YANG Mei-ling, ZHANG jian-zhen, ZHU kun-yan, et al. Mechanisms of organophosphate resistance in a field population of oriental migratory locust, *Locusta migratoria manilensis* (Meyen)[J]. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 2009, 71(1)3-15.
- [22] 李少菁,王桂忠,翁卫华,等.重金属对日本对虾仔虾存活及代谢活力的影响[J].台湾海峡,1998,17:115-120.
LI Shao-jing, WANG Gui-zhong, WENG Wei-hua, et al. Effects of heavy metals on survival and metabolic enzyme activities of postlarvae *Penaeus japonicus*[J]. *Journal of Oceanography in Taiwan Strait*, 1998, 17: 115-120.
- [23] Vlahovic M, Mataruga V P, Mrdakovic M. Enzymatic biomarkers as indicators of dietary cadmium in gypsy moth caterpillars [J]. *Environ Sci Pollut Res*, 2012, 12.
- [24] Bream A S. Laboratory evaluation of heavy metals stress on certain biochemical parameters of the aquatic insect, *Sphaerodema urinator* Duf. (Hemiptera; Belostomatidae)[J]. *Commun Agric Appl Biol Sci*, 2003, 68: 291-297.
- [25] Poteat M D, Diaz-J M, Buchwalter D B. Divalent metal(Ca, Cd, Mn, Zn) uptake and interactions in the aquatic insect *Hydropsyche sparna* [J]. *J Exp Biol*, 2012, 215: 1575-1583.
- [26] Enayati A A, Ranson H, Hemingway J. Insect glutathione transferases and insecticide resistance[J]. *Insect Molecular Biology*, 2005, 14: 3-8.
- [27] 薛超彬,王 勤,贺 量,等.金属离子对菜青虫酚氧化酶活力的影响[J].厦门大学学报(自然科学版),2005,44:120-122.
XUE Chao-bin, WANG Qin, HE Liang, et al. Effects of some metal ions on the activity of phenoloxidase from *Pieris rapae* L.[J]. *Journal of Xiamen University(Natural Science)*, 2005, 44: 120-122.
- [28] 林庆同,王 伟,杨美花,等.金属离子对马铃薯多酚氧化酶活力的影响[J].厦门大学学报(自然科学版),2010,49:561-563.
LIN Qing-tong, WANG Wei, YANG Mei-hua, et al. Effects of some metal ions on the activity of polyphenol oxidase from potato[J]. *Journal of Xiamen University(Natural Science)*, 2010, 49: 561-563.