

刘丽华,王 双,关 磊. 北乌头乙醇提取液对菜青虫体内保护酶活性的影响[J]. 江苏农业科学,2015,43(1):146-147.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.01.050

北乌头乙醇提取液对菜青虫体内保护酶活性的影响

刘丽华,王 双,关 磊

(通化师范学院生物系,吉林通化 134002)

摘要:为探讨北乌头的杀虫作用机理,采用分光光度法测定了北乌头乙醇提取液对菜青虫体内保护酶活性的影响。由结果可知,用北乌头乙醇提取液处理菜青虫后,其体内 SOD 和 CAT 酶活性呈现先升高后降低的趋势,都在 24 h 时达到高峰,而 POD 酶活性则表现为先下降后上升再下降的趋势;在处理 36 h 前,3 种保护酶处理组都高于对照组,48 h 后,均低于对照组。结果说明,北乌头乙醇提取液能有效干扰昆虫体内保护酶系,扰乱其正常的生理代谢,从而起到防治效果。

关键词:北乌头;菜青虫;保护酶

中图分类号:S482.3+9 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)01-0146-02

菜青虫是菜粉蝶(*Pieris rapae* L.)的幼虫,属鳞翅目粉蝶科,是十字花科植物的重要害虫,除食叶危害外,还可导致软腐病的发生,危害十分严重。长期以来,对其防治都以化学农药为主,但由于化学农药的毒性、残留及抗性等,带来了一系列社会和生态问题。因此,创制新型、高效、低毒杀虫剂备受人们重视,特别是利用天然植物活性成分制作杀虫剂更是引人注目。开发植物源农药是现代农药研究的一个重要发展方向。

北乌头为毛茛科乌头属多年生草本植物,多分布在我国的东北及华北地区,其块根具有镇痛、镇痉、祛风湿和解热等作用,是一类具有广阔开发前景的重要植物资源。除广泛应用于医学外,已有将其应用于防治植物害虫的报道^[1-4]。

研究表明,昆虫与其他生物一样,体内存在着自由基,其中超氧自由基具有很强的氧化能力,对许多生物功能分子具有破坏作用。但在正常情况下,昆虫体内存在超氧化物歧化酶(superoxide, SOD)、过氧化物酶(peroxidase, POD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)等保护酶系,三者协同作用,使自由基保持在一个较低的水平,从而维持昆虫体内正常的生理活

动^[5-7]。近年来,有关昆虫保护酶的研究报道很多,但多数集中在化学农药抗性、病原微生物与昆虫保护酶之间的研究,而关于利用天然植物活性成分对菜青虫体内保护酶活性变化的研究还未见报道。为探讨北乌头对菜青虫杀虫作用机理,笔者研究了用北乌头乙醇提取液处理菜青虫后,其体内保护酶的活性变化规律,以期与研究及开发新的植物型杀虫剂及作用机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

北乌头采自长白山区。菜青虫成虫从通化师范学院生物系植物园中采回,在实验室内饲养,让其产卵于白菜苗上,选择生长状态良好、整齐一致的 4 龄幼虫进行试验。

1.2 试虫处理

将新鲜幼嫩白菜叶分别浸泡于用乙醇提取的质量浓度为 30 mg/L 的北乌头块根粗提液(试验组)和清水(对照组)中,3 s 后取出晾干,分别饲喂菜青虫。每 8 h 测定 1 次 POD、SOD、CAT 的活性。每处理 10 头幼虫,重复 3 次。

1.3 保护酶活性测定方法

1.3.1 酶液制备 将预先处理好的试虫置于预冷的研钵中,加入 PBS(磷酸盐缓冲液,0.05 mol/L, pH 值 7.0)和少许石英砂,在冰浴下研磨成匀浆,4 ℃、10 000 r/min 离心 10 min,上清液即为酶液,贮于 4 ℃下备用。

1.3.2 SOD 酶活力测定 采用氮蓝四唑光化学还原法^[8]

学出版社,2007。

[14]高立起,孙 阁. 生物农药集锦[M]. 北京:中国农业出版社,2009。

[15]胡永红,曹 峥,杨文革,等. 多效霉素研究进展[J]. 江苏农业科学,2013,41(12):1-4。

[16]刘保友,王英姿,张 伟,等. 苹果斑点落叶病菌对多抗霉素的抗药性及其地理分布[J]. 中国果树,2013(4):49-51。

[17]张 亚,何可佳,刘 薇,等. 几种药剂防治烟草赤星病的药效试验[J]. 烟草科技,2009(10):61-64。

收稿日期:2014-03-15

基金项目:吉林省科技项目(编号:20130101100JC);吉林省教育厅项目(编号:2013493)。

作者简介:刘丽华(1972—),女,吉林通化人,博士,副教授,主要从事动物资源与功能基因组研究。Tel: (0435) 3208073; E-mail: liulihua209@163.com。

[9]姜兴印. 抗药木霉菌高效生防菌株生物学及其制剂加工技术[D]. 泰安:山东农业大学,2006:17-68。

[10]孙广宇,宗兆锋. 植物病理学实验技术[M]. 北京:中国农业出版社,2002。

[11]NY/T 1156.2-2006 农药室内生物测定试验准则 杀菌剂第 2 部分:抑制病原真菌菌丝生长试验平皿法[S]。

[12]奉代力,王 强,陈丽萍,等. 2 种常见番茄致病真菌对几种杀菌剂的敏感性测定[J]. 中国农学通报,2013,29(16):96-99。

[13]魏艳敏. 生物农药及其应用技术问答[M]. 北京:中国农业大

测定。

1.3.3 POD 酶活力测定 采用 Bestwick 等的愈创木酚法^[9]测定。

1.3.4 CAT 酶活力测定 采用 Chance 等方法^[10]测定。

2 结果与分析

2.1 菜青虫体内 SOD 酶活性变化

图 1 表明,对照组菜青虫体内 SOD 酶活性比较稳定,变化不大;处理组 SOD 酶活性呈现先上升后下降的趋势,在 24 h 时达到最大值,随后开始下降,36 h 前仍高于对照,随着处理时间的延长,SOD 活性逐渐被抑制,至 48 h 时低于对照组。这可能是由于清除由免疫反应产生的大量自由基的需要,使得在处理初期 SOD 酶活性升高;而在处理后期,SOD 的合成能力受到抑制,使自身的防御能力开始下降,表现为

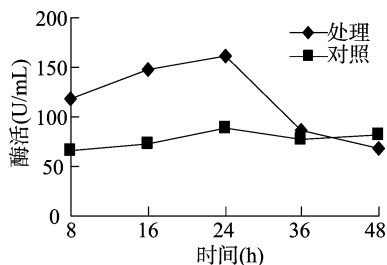


图1 北乌头乙醇提取液处理后菜青虫体内超氧化物歧化酶的活性变化

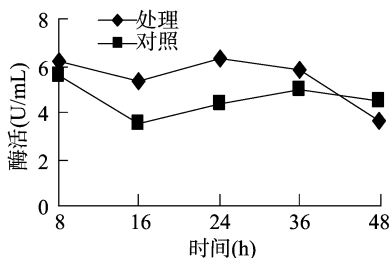


图2 北乌头乙醇提取液处理后菜青虫体内过氧化物酶的活性变化

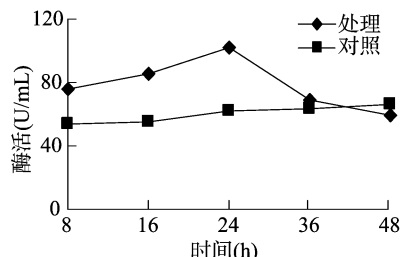


图3 北乌头乙醇提取液处理后菜青虫体内过氧化氢酶的活性变化

3 结论与讨论

昆虫体内存在着 SOD、POD、CAT 等保护酶,SOD 的主要功能是清除生物体内超氧离子基团,使生物体内过多的活性氧转变为 H_2O_2 ,POD 和 CAT 能清除昆虫体内产生的多余 H_2O_2 ,在这些酶的协调作用下,细胞内的活性氧自由基处于一种动态平衡状态^[11]。现已证实,昆虫保护酶系统活性与杀虫剂、昆虫病毒、微孢子虫等外界刺激物的强度以及昆虫耐药性、抗逆性等相关^[6,12-13]。因此,菜青虫体内保护酶活性变化可以作为测定其抗逆能力的重要指标加以利用。

本研究结果表明,菜青虫经北乌头乙醇粗提液处理后,其体内 SOD、POD、CAT 酶活性均高于对照虫体,这与李周直等的研究结果^[6]相同。在处理初期,SOD、POD、CAT 活力开始提高,表明在感染初期,菜青虫体内迅速做出了免疫反应以适应外界毒害的影响;随着处理时间的延长,SOD、POD、CAT 活性最终表现出被抑制,对机体内自由基的清除能力减弱,从而引起昆虫死亡。

一般认为,保护酶系是昆虫与寄主之间、昆虫的抗药性及昆虫与化学杀虫剂之间起关键作用的酶系。本研究用北乌头乙醇提取液处理能诱导其体内保护酶的活性变化,对于菜青虫的生物防治有重要意义,本研究结果为探明北乌头处理其体内的防御反应提供了一定的理论依据,但要明确其中的机制及保护酶的作用方式还有待深入研究。

参考文献:

[1] 乔淑芬,孙杰,顾地周. 北乌头不同部位乙醇提取液对玉米蚜的生物活性[J]. 江苏农业科学,2011,39(6):217-218,250.

SOD 酶活性总体下降的趋势。

2.2 菜青虫体内 POD 酶活性变化

图 2 表明,处理组 POD 酶活性呈现先下降后上升随后又下降的趋势,在 36 h 前高于对照,至 48 h 时,低于对照组。说明菜青虫体内的保护系统开始启动,以减轻超氧离子等有毒氧化物质对虫体自身的伤害。

2.3 菜青虫体内 CAT 酶活性变化

图 3 表明,处理组 CAT 酶活性呈现先上升后下降的趋势,在 24 h 时达到最大值,随后开始下降,在 36 h 前仍高于对照;随着处理时间延长,至 48 h 时,低于对照组。推测在处理初期,其机体迅速合成 CAT,以清除毒害作用的影响,维持机体正常的生理活动,但随着处理时间的延长,虫体内组织和物质代谢受到严重破坏,使虫体 CAT 活力降低。

[2] 顾地周,巴春影,谢艳君. 长白山区 3 种乌头属植物对 3 种农作物蚜虫触杀活性的比较[J]. 农药,2011,50(4):296-299.

[3] 高占林,潘文亮,党志红,等. 几种杀虫植物对蚜虫的生物活性及与化学杀虫剂混用的联合毒性[J]. 河北农业大学学报,2004,27(4):67-70.

[4] 赵玉敏,王凯,顾地周,等. 北乌头不同提取液对菜青虫快速变态的影响[J]. 贵州农业科学,2013,41(10):109-111.

[5] 张仙红,王宏民,李文英,等. 菜青虫感染玫瑰烟色拟青霉后血淋巴蛋白质含量及几种保护酶活力的变化[J]. 昆虫学报,2006,49(2):230-234.

[6] 李周直,沈惠娟,蒋巧很,等. 几种昆虫体内保护酶系统活力的研究[J]. 昆虫学报,1994,4(4):399-403.

[7] 刘奇志,曹海峰,王玉柱,等. 昆虫线虫抑制植物线虫的机理研究进展[J]. 植物保护,2006,32(6):13-17.

[8] Perry C A, Dwyer J, Gouris R R. Health effects salicylates in food and drug[J]. Nutrient Rev,1996,54(8):225-240.

[9] 张志良,瞿伟菁. 植物生理学实验指导[M]. 3 版. 中国台湾:艺轩图书出版社,2009.

[10] Chance B, Maehly A C. Assay of catalases and peroxidases[J]. Methods Enzymol,1955,11(2):764-775.

[11] 李会平,黄大庄,高洁,等. 保护酶在桑天牛与不同抗性杨树之间的互作过程[J]. 蚕业科学,2006,32(4):578-581.

[12] 冯宏祖,刘映红,何林,等. 阿维菌素和温度胁迫对朱砂叶螨自由基及保护酶活性的影响[J]. 植物保护学报,2008,35(6):530-536.

[13] 刘玉娣,赵士熙. 小菜蛾过氧化氢酶和过氧化物酶与耐药性的关系[J]. 福建农林大学学报:自然科学版,2002,31(3):304-307.