

doi: 10.3969/j.issn.1674-0858.2016.04.9

高温胁迫对扶桑绵粉蚧成虫过氧化物酶和谷胱甘肽-S-转移酶活性的影响

袁盛勇, 孔琼*, 吴晶莹, 秦文旭, 刘小红, 陈振毅, 马廷霞, 尹久婷

(红河学院生命科学与技术学院, 云南蒙自 661100)

摘要: 为了研究高温胁迫对扶桑绵粉蚧的影响, 将该虫分别置于 35℃、38℃、41℃、44℃ 和 47℃ 水浴处理 2 h、3 h 和 4 h, 然后置于 26℃ 下恢复 2 h, 测定成虫的过氧化物酶 (POD) 和谷胱甘肽-S-转移酶 (GSTs) 活力的变化。结果表明在处理 2 h、3 h 和 4 h 下, 对照 (26℃) 的 POD 活力值分别为 (0.0527 ± 0.0015) mmol/min、(0.0508 ± 0.0015) mmol/min 和 (0.0483 ± 0.0072) mmol/min, 均高于高温各处理的 POD 活力值; 5 个温度处理下的 POD 活力值变化为低 (35℃) – 高 (38℃) – 低 (41℃、44℃、47℃) 的变化趋势; 当处理 2 h 时, 不同温度下的 POD 活力值分别是 (0.0183 ± 0.0009) (35℃)、(0.0480 ± 0.0012) (38℃)、(0.0227 ± 0.0012) (41℃)、(0.0197 ± 0.0003) (44℃)、(0.0173 ± 0.0007) (47℃) mmol/min。且在不同温度和时间处理下, 成虫的 GSTs 活性变化趋势与 POD 活性变化趋势一致。即不同时间处理下, 对照的 GSTs 活性均高于高温各处理的 GSTs, 其对照的 GSTs 活力值分别为 (0.5537 ± 0.0044) (2 h)、(0.5358 ± 0.0078) (3 h) 和 (0.5291 ± 0.0264) (4 h) mmol/min; 5 个温度处理下的 GSTs 活力值变化为低 (35℃) – 高 (38℃) – 低 (41℃、44℃、47℃) 的变化趋势; 当处理 3 h 时, 不同温度下的 GSTs 活力值分别是 (0.5114 ± 0.0116) (35℃)、(0.5426 ± 0.0009) (38℃)、(0.4861 ± 0.0073) (41℃)、(0.3657 ± 0.0029) (44℃)、(0.3404 ± 0.0156) mmol/min (47℃)。因此高温对扶桑绵粉蚧体内的 POD 和 GSTs 活力存在影响。

关键词: 扶桑绵粉蚧; 高温胁迫; 过氧化物酶; 谷胱甘肽转移酶

中图分类号: Q968.1; S433

文献标志码: A

文章编号: 1674-0858 (2016) 04-0723-05

Effect of high temperature stress on enzyme activity of peroxidase and glutathione-S-transferases in adult of *Phenacoccus solenopsis* Tinsley

YUAN Sheng-Yong, KONG Qiong*, WU Jing-Ying, QIN Wen-Xu, LIU Xiao-Hong, CHEN Zhen-Yi, MA Ting-Xia, YING Jiu-Ting (College of Life Science and Technology, Honghe University, Mengzi 661100, Yunnan Province, China)

Abstract: In order to study effect of heat stress on *Phenacoccus solenopsis* Tinsley, the adults were placed in water bath for 2, 3 and 4 hour (h) at 35℃, 38℃, 41℃, 44℃ and 47℃, and these treatments were restored for 2 h at 26℃, the enzyme activity of peroxidase (POD) and glutathione-S-transferases (GSTs) were measured. The results showed that activities of POD in control were higher than that of heat stress, the activity value of POD was respectively (0.0527 ± 0.0015) in 2 h, (0.0508 ± 0.0015) in 3 h, (0.0483 ± 0.0072) mmol/min in 4 h; the trend of POD activity under five treatments of different temperatures was low (35℃) – high (38℃) – low (41℃, 44℃, 47℃), the activity value of POD in 2h by five temperatures was respectively (0.0183 ± 0.0009) (35℃), (0.0480 ± 0.0012) (38℃), (0.0227 ± 0.0012) (41℃), (0.0197 ± 0.0003) (44℃), (0.0173 ± 0.0007) (47℃) mmol/min. And the trend of GSTs activity was consistent with the trend of POD activity under different temperatures and times; for

基金项目: 云南省高等学校卓越青年教师特殊培养项目; 红河学院植物保护硕士授权点建设项目

作者简介: 袁盛勇, 男, 1975 年生, 云南宣威人, 硕士, 副教授, 主要从事昆虫生态学及害虫综合防治研究, E-mail: ysy9069@163.com

* **通讯作者** Author for correspondence, E-mail: kq_biology2@126.com

收稿日期 Received: 2016-06-02; **接受日期** Accepted: 2016-07-16

example that activities of GSTs in control were higher than that of heat stress, the activity value of GSTs was respectively (0.5537 ± 0.0044) in 2 h, (0.5358 ± 0.0078) in 3 h, (0.5291 ± 0.0264) mmol/min in 4 h; the activity trend of GSTs under five temperatures was low (35°C) – high (38°C) – low ($41, 44, 47^{\circ}\text{C}$), the activity value of GSTs in 3 h by different temperatures was respectively (0.5114 ± 0.0116) (35°C), (0.5426 ± 0.0009) (38°C), (0.4861 ± 0.0073) (41°C), (0.3657 ± 0.0029) (44°C), (0.3404 ± 0.0156) mmol/min (47°C). So heat stress had a certain effect on activities of POD and GSTs in adults of *Phenacoccus solenopsis* Tinsley.

Key words: *Phenacoccus solenopsis* Tinsley; heat stress; peroxidase; glutathione-S-transferases

扶桑绵粉蚧 *Phenacoccus solenopsis* Tinsley 属半翅目 Hemiptera 粉蚧科 Pseudococcidae (Tinsley, 1898), 是一种危害园林和大田作物的害虫。其寄主植物包括葫芦科、豆科、茄科、唇形科、锦葵科、藜科等 100 多种植物, 其中棉花、烟草、南瓜、番茄等是重要的经济作物 (崔志富等, 2015)。该虫对棉花危害严重 (陆永跃等, 2008; 武三安和张润志, 2009)。调查发现, 云南省共 8 个州 (市) 10 个县 (市) 有扶桑绵粉蚧的分布, 其寄主植物共 14 科 18 属 19 种, 包括园林观赏植物 3 种、经济作物 1 种、蔬菜作物 2 种、粮食作物 1 种、杂草 11 种, 其中有 12 种植物在我国其他疫区未见报道 (闫鹏飞等, 2013)。全球温室效应引发气温升高, 昆虫作为变温动物, 温度升高对种群生态及扩散产生重大影响。从昆虫生理水平上研究温度胁迫可揭示其作用机制。过氧化物酶 (POD) 是昆虫体内存在的酶促保护系统, 已经被证实广泛存在于各种生物。研究报道西藏飞蝗在 $30^{\circ}\text{C} - 35^{\circ}\text{C}$ 高温胁迫下, 成虫过氧化物酶活性随温度升高而升高, 当温度超过 35°C 时, 酶活性均下降 (李庆等, 2012)。谷胱甘肽-S-转移酶 (glutathione-S-transferases, 简称 GSTs) 是昆虫解毒酶系统中的一类重要的多功能超基因家族酶 (Rauch and Nauen, 2004), 其活性也受温度影响。 15°C 下松毛虫赤眼蜂 *Trichogramma dendrolimi*, 谷胱甘肽硫转移酶的比活力最低为 6.80 mmol/min , 35°C 下最高为 98.22 mmol/min (孙悦等, 2014)。本文主要研究了高温胁迫对扶桑绵粉蚧成虫过氧化物酶和谷胱甘肽转移酶活力的影响, 为阐明该虫对热胁迫的响应机制提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试虫源

扶桑绵粉蚧采自文山州富宁县驳骨丹 *Buddleja*

asiatica Lour 上, 在室内以扶桑枝条为食料饲养繁殖种群。

1.1.2 仪器

人工气候箱 (RXZ-300B 型)、冰箱、电子天平、研钵、TGL16 高速冷冻离心机、756MC 分光光度计、恒温水浴锅、试管和试管夹等。

1.1.3 试剂

磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、愈创木酚、过氧化氢、1-氯-2, 4-二硝基苯 (CDNB) 和还原性谷胱甘肽 (GSH)。

1.2 方法

1.2.1 扶桑绵粉蚧酶液的提取

参照刘彦飞 (2013) 的方法略作修改, 将健康的扶桑绵粉蚧成虫 10 头为一组进行分组, 先分别称重, 记录成虫的重量, 再依次放入编号的试管内, 分别采用 35°C 、 38°C 、 41°C 、 44°C 和 47°C 水浴处理 2 h、3 h 和 4 h, 每处理重复 3 次。处理后成虫按照体重 8 mL/g 加入 0.04 mol/mL 磷酸缓冲液 ($\text{pH}7.0$) 冰浴研磨, 置于高速冷冻离心机于 4°C , 15000 r/min 在离心机上离心 15 min, 取上清液备用。

1.2.2 过氧化物酶 (POD) 活力测定

采用愈创木酚比色法, 参照刘彦飞 (2013) 等的方法进行测定。

1.2.3 谷胱甘肽-S-转移酶 (GST) 活力测定

参照刘群 (2008) 等的方法测定 GST 活力。

1.3 数据统计与分析

1.3.1 谷胱甘肽-S-转移酶 (GST) 活力测定公式

$\text{GST 活力单位 (mmol/min)} = (\Delta\text{OD}_{340} \times V) / (\varepsilon \times L \times V_E)$, 式中 ΔOD_{340} 为每分钟吸光度的变化值; V 为酶液反应总体积 (mL); ε 为产物消光系数 ($9.6 \text{ L/mmole} \cdot \text{cm}$); L 为比色杯的光程 (1 cm); V_E 为加入酶液的体积 (mL)。

1.3.2 数据分析

数据采用 SPSS 17.0 软件、EXCEL 软件进行统计与分析。

2 结果与分析

2.1 高温胁迫对成虫过氧化物酶 POD 酶活性的影响

由表 1 可知, 在时长 2 h, 处理温度在 35℃至 47℃ 的 POD 活力值依次是 (0.0183 ± 0.0009) mmol/min、(0.0480 ± 0.0012) mmol/min、(0.0227 ± 0.0012) mmol/min、(0.0197 ± 0.0003) mmol/min 和 (0.0173 ± 0.0007) mmol/min, 但以上处理温度的 POD 活力值均低于对照 (26℃) 的 POD 活力值 (0.0527 ± 0.0015) mmol/min。处理时间为 3 h 时 35℃至 47℃ 的 POD 活力值依次是 (0.0213 ± 0.0020) mmol/min、(0.0450 ± 0.0017) mmol/min、(0.0253 ± 0.0009) mmol/min、

(0.0228 ± 0.0009) mmol/min 和 (0.0190 ± 0.0006) mmol/min, 均低于对照 (26℃) 的 POD 活力值 (0.0508 ± 0.0015) mmol/min。处理时间增加到 4 h 时 35℃至 47℃ 的 POD 活力值依次是 (0.0167 ± 0.0007) mmol/min、(0.0350 ± 0.0021) mmol/min、(0.0223 ± 0.0009) mmol/min、(0.0187 ± 0.0015) mmol/min 和 (0.0143 ± 0.0012) mmol/min, 均低于对照 (26℃) 的 POD 活力值 (0.0483 ± 0.0072) mmol/min。在处理时间为 2 h、3 h 和 4 h 时, 温度在 35℃至 47℃ 的 POD 活力值, 35℃的 POD 活力值小于 38℃ 时 POD 活力值 (38℃ 时 POD 活力值达到最大), 然后随着温度的增加, 41℃、44℃和 47℃ 的 POD 活力值逐渐下降。扶桑绵粉蚧成虫受高温胁迫后 POD 活力均小于对照组 (26℃) 的 POD 活力值。

表 1 相同时间不同温度处理下扶桑绵粉蚧成虫 POD 酶活性 (mmol/min)
Table 1 POD activity in adult of *Phenacoccus solenopsis* Tinsley at same time under different temperature

处理温度 (℃) Treatment temperature	处理时间 (h) Treatment time		
	2	3	4
26 (CK)	0.0527 ± 0.0015 a	0.0508 ± 0.0015 a	0.0483 ± 0.0072 a
35	0.0183 ± 0.0009 d	0.0213 ± 0.0020 bc	0.0167 ± 0.0007 de
38	0.0480 ± 0.0012 b	0.0450 ± 0.0017 a	0.0350 ± 0.0021 b
41	0.0227 ± 0.0012 c	0.0253 ± 0.0009 b	0.0223 ± 0.0009 c
44	0.0197 ± 0.0003 cd	0.0228 ± 0.0009 bc	0.0187 ± 0.0015 cd
47	0.0173 ± 0.0007 d	0.0190 ± 0.0006 c	0.0143 ± 0.0012 e

注: 同列同一因素具有相同字母者差异不显著 (P>0.05)。Note: For each factor within columns, the same letter indicated not significant difference (P>0.05) .

2.2 高温胁迫对成虫谷胱甘肽-S-转移酶 (GSTs) 活性影响

由表 2 可知, 在相同处理时间下 35℃、38℃、41℃、44℃和 47℃ 的 GSTs 活性均低于对照组 (26℃) 的 GSTs 活性。在处理时间为 2 h 时对照组 (26℃)、35℃、38℃、41℃、44℃和 47℃ 的 GSTs 活性值依次是 (0.553 ± 0.0044) mmol/min、(0.4903 ± 0.0050) mmol/min、(0.5196 ± 0.0179) mmol/min、(0.4375 ± 0.0153) mmol/min、(0.3397 ± 0.0023) mmol/min 和 (0.2618 ± 0.0080) mmol/min。处理时间为 3 h 时对照组 (26℃)、35℃、38℃、41℃、44℃和 47℃ 的 GSTs 活性值依次是 (0.5358 ± 0.0052) mmol/min、

(0.5114 ± 0.0116) mmol/min、(0.5426 ± 0.0009) mmol/min、(0.4861 ± 0.0073) mmol/min、(0.3657 ± 0.0029) mmol/min 和 (0.3404 ± 0.0156) mmol/min。处理时间为 4 h 时对照组 (26℃)、35℃、38℃、41℃、44℃和 47℃ 的 GSTs 活性值依次是 (0.5291 ± 0.0264) mmol/min、(0.4417 ± 0.0083) mmol/min、(0.5283 ± 0.0068) mmol/min、(0.4219 ± 0.0367) mmol/min、(0.3385 ± 0.0018) mmol/min 和 (0.1418 ± 0.0110) mmol/min。在处理时间为 2 h、3 h 和 4 h 在 35℃ 的 GSTs 活性值 < 38℃ 的 GSTs 活性值 > 41℃ > 的 GSTs 活性值 44℃ > 的 GSTs 活性值 > 47℃ 的 GSTs 活性值。

表 2 相同时间不同温度处理下扶桑绵粉蚧成虫 GSTs 酶活性 (mmol/min)

Table 2 GSTs activity in adult of *Phenacoccus solenopsis* Tinsley at same time under different temperature

处理温度 (℃) Treatment temperature	处理时间 (h) Treatment time		
	2	3	4
26 (CK)	0.5537 ± 0.0044 a	0.5358 ± 0.0078 a	0.5291 ± 0.0264 a
35	0.4903 ± 0.0050 b	0.5114 ± 0.0116 b	0.4417 ± 0.0083 b
38	0.5196 ± 0.0179 b	0.5426 ± 0.0009 a	0.5283 ± 0.0068 a
41	0.4375 ± 0.0153 c	0.4861 ± 0.0073 a	0.4219 ± 0.0367 b
44	0.3397 ± 0.0023 d	0.3657 ± 0.0029 c	0.3385 ± 0.0018 c
47	0.2618 ± 0.0080 e	0.3404 ± 0.0156 c	0.1418 ± 0.0110 d

注: 同列同一因素具有相同字母者差异不显著 ($P > 0.05$)。Note: For each factor within columns, the same letter indicated not significant difference ($P > 0.05$).

3 结论与讨论

目前, 尚未发现高温胁迫对扶桑绵粉蚧酶活力影响的研究, 但对其他昆虫相关方面的研究已有报道。刘彦飞 (2013) 得出相同的温度下, 随着处理时间的延长, POD 活力先高于对照组, 然后又显著低于对照组; 在相同处理时间, 随着处理温度的升高, POD 活力也表现出或增或减的变化趋势。刘群 (2009) 的研究中也表明, 抗性小菜蛾短时高温处理下酶活力变化不显著, 随着处理时间的延长酶活力抑制显著。本文在此研究基础上, 结合扶桑绵粉蚧的一些生理特性, 通过高温胁迫后, 测定出的 POD 和 GST 活力也呈现出一些变化。研究发现二化螟 *Chilo suppressalis* (Cui *et al.*, 2011)、印度天蚕 *Antheraea mylitta* (Jena *et al.*, 2013) 和龟纹瓢虫 *Propylaea japonica* (Zhang *et al.*, 2015) 在高温胁迫下 POD 活性升高的结果与本文的研究结果不完全一致。不同杀虫剂对异色瓢虫 3 龄幼虫及成虫保护酶活性均有明显影响, 且处理时间长短对幼虫和成虫体内酶活性影响不同, 随着药剂浓度的增加和处理时间的增长, 均出现不同程度的应激反应 (杨琼等, 2015), 该现象与高温胁迫下扶桑绵粉蚧的过氧化物酶 POD 酶活性变化趋势相类似。谷胱甘肽 S-转移酶 (GSTs) 是昆虫体内参与内源及外源性物质代谢的重要解毒酶, 在昆虫的寄主适应性及抗药性的形成中起着重要作用 (唐振华等, 1993)。GSTs 活性的升高可作为动物组织受损的敏感指标之一, 研究表明辣椒碱能够抑制昆虫体内的 GSTs 活性, 降低其催化解毒能力, 从而降低害虫对药剂的抵抗

力 (刘少武等, 2008)。该结论类似于处理温度增加或高温胁迫处理时间延长均会使扶桑绵粉蚧的谷胱甘肽-S-转移酶的活力下降相一致。本实验说明高温胁迫下对扶桑绵粉蚧的过氧化物酶 POD 酶活性和谷胱甘肽-S-转移酶的活力均出现影响。

参考文献 (References)

- Cui YD, Du YZ, Lu MX, *et al.* Antioxidant responses of *Chilo suppressalis* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae exposed to thermal stress [J]. *Journal of Thermal Biology*, 2011, 36 (5): 292–297.
- Cui ZF, Cao FQ, Lin JT, *et al.* Predation of *Propylaea japonica* Thunberg to *Phenacoccus solenopsis* Tinsley [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2015, 37 (4): 834–842. 崔志富, 曹凤勤, 林进添, 等. 龟纹瓢虫对扶桑绵粉蚧的捕食功能反应 [J]. *环境昆虫学报*, 2015, 37 (4): 834–842]
- Jena K, Kar PK, Kausar Z, *et al.* Effects of temperature on modulation of oxidative stress and antioxidant defenses in testes of tropical tasar silkworm *Antheraea mylitta* [J]. *Journal of Thermal Biology*, 2013, 38 (4): 199–204.
- Li Q, Wu L, Yang G, *et al.* Effects of temperature stress and ultraviolet radiation stress on antioxidant systems of *Locusta migratoria tibetensis* Chen [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2012, 32 (10): 3189–3197. 李庆, 吴蕾, 杨刚, 等. 温度和紫外辐射胁迫对西藏飞蝗抗氧化系统的影响 [J]. *生态学报*, 2012, 32 (10): 3189–3197]
- Liu Q. Effect of High Temperature on Acetylcholine Strase and Detoxification Enzymes in Insecticide-susceptible and Resistant Strains of *Plutella xylostella* [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2009, 9–13. 刘群. 高温对抗性和敏感小菜蛾 AchE 及解毒酶系活性的影响 [D]. 福州: 福建农林大学, 2009, 9–13]
- Liu SW, Ji MS, Gu ZM, *et al.* Effects of capsaicin on the enzyme activities of Glutathione-S-transferase and $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ in *Plutella xylostella* [J]. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2008,

- 10 (2): 240–242. 刘少武, 纪明山, 谷祖敏, 等. 辣椒碱对小菜蛾体内谷胱甘肽-S-转移酶和 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性的影响 [J]. 农药学报, 2008, 10 (2): 240–242]
- Liu YF. Physiological Responses of Adult *Grapholita molesta* Busck to High Temperature Stress [J]. Yanglin: Northwest A&F University, 2013, 15–18. 刘彦飞. 高温胁迫下梨小食心虫 *Grapholita molesta* Busck 成虫生理响应的研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2013, 15–18]
- Lu YY, Zeng L, Wang L, et al. Precaution of solenopsis mealybug *Phenacoccus solenopsis* Tinsley [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2008, 30 (4): 386–387. 陆永跃, 曾玲, 王琳, 等. 警惕一种危险性绵粉蚧入侵中国 [J]. 环境昆虫学报, 2008, 30 (30): 386–387]
- Sun Y, Gou TB, Han J, et al. Effect of short term temperature stress on activity of glutathione S-transferase of *Trichogramma dendrolimi* [J]. *Journal of Jilin Forestry Science and Technology*, 2014, 43 (5): 36–38. 孙悦, 勾天兵, 韩姣, 等. 胁迫温度短期冲击对松毛虫赤眼蜂谷胱甘肽硫转移酶活性的影响 [J]. 吉林林业科技, 2014, 43 (5): 36–38]
- Rauch N, Nauen R. Characterization and molecular cloning of a glutathione S-transferase from the whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) [J]. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 2004, 34: 321–329.
- Tang ZH, Zhou CL. The role of detoxication esterases in insecticide resistance of diamondback moth *Plutella xylostella* larvae [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 1993, 36 (1): 8–13. 唐振华, 周成理. 解毒酯酶在小菜蛾抗性中的作用 [J]. 昆虫学报, 1993, 36 (1): 8–13]
- Yang Q, Wang S H, Zhang WH, et al. Toxicity of commonly used insecticides and their influences on protective enzyme activity of multicolored Asian lady beetle *Harmonia axyridis* (Pallas) [J]. *Journal of Plant Protection*, 2015, 42 (2): 258–263. 杨琼, 王淑会, 张文慧, 等. 常用杀虫剂对异色瓢虫的毒力及其保护酶的影响 [J]. 植物保护学报, 2015, 42 (2): 258–263]
- Wu SA, Zhang RZ. A new invasive pest, *Phenacoccus solenopsis* threatening seriously to cotton production [J]. *Chinese Bulletin of Entomology*, 2009, 46 (1): 159–162. 武三安, 张润志. 威胁棉花生产的外来入侵新害虫—扶桑绵粉蚧 [J]. 昆虫知识, 2009, 46 (1): 159–162]
- Yan PF, Sun YX, Li ZY, et al. Distribution and damage of *Phenacoccus solenopsis* Tinsley in Yunnan Province [J]. *Journal of Biosafety*, 2013, 22 (4): 237–241. 闫鹏飞, 孙跃先, 李正跃, 等. 云南省扶桑绵粉蚧的分布和危害 [J]. 生物安全学报, 2013, 11 (2): 163–167]
- Zhang SZ, Fu WY, Li N, et al. Antioxidant responses of *Propylaea japonica* (Coleoptera: Coccinellidae) exposed to high temperature stress [J]. *Journal of Insect Physiology*, 2015, 73: 47–52.