

## 寄主植物、温度对金银花尺蠖幼虫消化酶活性的影响

向玉勇, 孙 星, 殷培峰

(滁州学院 生物与食品工程学院, 安徽 滁州 239000)

**摘要:**【目的】通过研究寄主植物、温度对金银花尺蠖 *Heterolocha jinyinhuaphaga* 幼虫消化酶活性的影响, 为深入研究金银花尺蠖环境适应性的生理生化机制奠定基础。【方法】采用 3,5-二硝基水杨酸法、福林-酚法和标准氢氧化钠溶液滴定法, 通过分光光度计和滴定管测定了寄主植物、温度对金银花尺蠖幼虫消化酶活性的影响。【结果】取食 3 个金银花 *Lonicera japonica* 品种‘九丰 1 号’‘Jiufeng No. 1’、‘响水 1 号’‘Xiangshui No. 1’、‘响水 2 号’‘Xiangshui No. 2’和野生金银花后, 金银花尺蠖各龄幼虫消化酶活性均不一样。取食野生金银花的金银花尺蠖淀粉酶、蔗糖酶和蛋白酶活性均最高, 脂肪酶活性最低, 在 1 龄幼虫中 4 种消化酶的活性分别为 18.37、26.45、22.31 和 5.54 mmol·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>。4 种消化酶活性均随着幼虫龄期的增加而增大, 取食 4 种金银花后 5 龄幼虫的淀粉酶活性分别比 1 龄幼虫增加了 33.39%、27.48%、33.31%和 45.29%, 蔗糖酶活性分别增加了 19.12%、15.02%、14.64%和 29.64%, 蛋白酶活性分别增加了 25.55%、18.69%、21.69%和 41.46%, 脂肪酶活性分别增加了 84.95%、68.04%、68.41%和 77.80%。在 16~34 ℃, 4 种消化酶活性均随着温度的升高表现为先上升后下降的趋势, 1~5 龄幼虫的淀粉酶活性在 22 ℃最高, 分别为 19.95、20.57、21.79、23.64 和 25.86 mmol·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>; 1~5 龄幼虫的蔗糖酶活性在 22 ℃最高, 分别为 27.65、28.89、29.85、31.45 和 32.89 mmol·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>; 1~5 龄幼虫的蛋白酶活性在 25 ℃最高, 分别为 21.65、22.76、23.43、25.71 和 26.98 mmol·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>; 1~5 龄幼虫的脂肪酶活性在 28 ℃最高, 分别为 7.38、8.49、9.81、11.33 和 13.21 mmol·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>。方差分析显示: 寄主植物和幼虫龄期的交互作用, 以及温度和幼虫龄期的交互作用对金银花尺蠖幼虫 4 种消化酶活性均没有显著影响。【结论】寄主植物、温度能影响金银花尺蠖幼虫消化酶的活性。表 3 参 26

**关键词:** 金银花尺蠖; 寄主植物; 温度; 消化酶

**中图分类号:** Q969.93

**文献标志码:** A

**文章编号:** 2095-0756(2020)02-0311-08

## Effects of host plants and temperatures on digestive enzyme activities in *Heterolocha jinyinhuaphaga* larvae

XIANG Yuyong, SUN Xing, YIN Peifeng

(School of Biology and Food Engineering, Chuzhou University, Chuzhou 239000, Anhui, China)

**Abstract:** [Objective] This research aims to study the effects of host plants and temperatures on digestive enzyme activities in *Heterolocha jinyinhuaphaga* larvae, and lay a foundation for further research on their physiological and biochemical mechanism of environmental adaptation. [Method] Effects of these factors on digestive enzyme activities in *H. jinyinhuaphaga* larvae were studied through ultraviolet spectrophotometry and burette in laboratory by using 3,5-dinitrosalicylic acid method, fulin-phenolic method, and standard sodium hydroxide solution titration method. [Result] Digestive enzyme activities of each *H. jinyinhuaphaga* larva differed after feeding on ‘Jiufeng No. 1’, ‘Xiangshui No. 1’, ‘Xiangshui No. 2’ and a wild variety of *Lonicera japonica*. The *H. jinyinhuaphaga* larvae feeding on the wild variety had the highest amylase, sucrase and protease activities, and the lowest lipase activity. The activities in the 1st instar larva were 18.37, 26.45, 22.31 and 5.54 mmol·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>.

收稿日期: 2019-05-02; 修回日期: 2019-07-05

基金项目: 安徽省高校优秀中青年骨干人才国内外访学研修重点项目(gxfxZD2016249); 滁州学院科研启动基金资助项目(2019qd02)

作者简介: 向玉勇, 教授, 博士, 从事害虫防治研究。E-mail: xyy10657@sohu.com

min<sup>-1</sup> respectively. The four digestive enzyme activities all increased with larval ages. Compared with the 1st instar larvae, the 5th instar larvae, after feeding on the four cultivars, displayed an increase in amylase activities by 33.39%, 27.48%, 33.31% and 45.29%, an increase in sucrase activities by 19.12%, 15.02%, 14.64% and 29.64%, an increase in protease activities by 25.55%, 18.69%, 21.69% and 41.46%, and an increase in lipase activities by 84.95%, 68.04%, 68.41% and 77.80%. In the range of 16–34 °C, the activities of the four digestive enzymes all showed a tendency of first increasing and then decreasing with the rise of temperature. The highest amylase activities were observed at 22 °C in the larvae of the 1st–5th instar, which were 19.95, 20.57, 21.79, 23.64 and 25.86 mmol·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>. The sucrase activities of the 1st–5th instar larvae were the highest at 22 °C, which were 27.65, 28.89, 29.85, 31.45 and 32.89 mmol·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>. The protease activities of the 1st–5th instar larvae were the highest at 25 °C, which were 21.65, 22.76, 23.43, 25.71 and 26.98 mmol·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>. The lipase activities of the 1st–5th instar larvae were the highest at 28 °C, which were 7.38, 8.49, 9.81, 11.33 and 13.21 mmol·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>. Two-way ANOVA showed that the interaction between host plants and larval ages, as well as the interaction between temperatures and larval ages, had no significant effect on the four digestive enzyme activities. [Conclusion] Host plants and temperatures can affect digestive enzyme activities of *H. jinyinhuaphaga* larvae. [Ch, 3 tab. 26 ref.]

**Key words:** *Heterolochoa jinyinhuaphaga*; host plant; temperature; digestive enzyme

植食性昆虫通过取食寄主植物来获取生长发育所需的糖类、蛋白质和脂肪等营养物质。昆虫中肠上皮细胞能形成和分泌消化酶, 将这些营养物质消化分解成小分子物质供生长发育需要, 如纤维素酶可将纤维素水解成葡萄糖<sup>[1]</sup>;  $\alpha$ -淀粉酶可将淀粉等多糖水解成为麦芽糖、葡萄糖、果糖等, 参与体内的能量代谢<sup>[2]</sup>; 蛋白酶能将蛋白质水解为氨基酸, 为昆虫的生长和繁殖提供氮源<sup>[3]</sup>; 脂肪酶可将三酰基甘油、磷脂、酰基甘油分解生成游离脂肪酸<sup>[4]</sup>。食性不同的昆虫消化酶种类和活性不同, 食性相同的昆虫取食不同的寄主, 甚至同种不同生长阶段的寄主, 消化酶活性也存在差异<sup>[5]</sup>。如贾冰等<sup>[6]</sup>报道: 在棉花 *Gossypium hirsutum* 和苜蓿 *Medicago sativa* 上饲养牧草盲蝽 *Lygus pratensis*, 成虫的淀粉酶活性显著高于其他供试植物。李艺琼等<sup>[7]</sup>报道: 椰心叶甲 *Brontispa longissima* 5 龄幼虫取食椰树 *Cocos nucifera* 半展叶、展叶后, 中肠的蔗糖酶、淀粉酶、蛋白酶及脂肪酶活性均比取食心叶的幼虫显著下降。同时, 环境因子的变化也会影响昆虫体内消化酶的活性及随后的生理过程。姜丽娜等<sup>[8]</sup>报道: 随着二氧化碳浓度的升高, 四季豆 *Phaseolus vulgaris*、黄瓜 *Cucumis sativus*、辣椒 *Capsicum annuum* 和茼蒿 *Chrysanthemum coronarium* 饲养的西花蓟马 *Frankliniella occidentalis* 和花蓟马 *Frankliniella intonsa* 成虫体内的淀粉酶活性均降低, 脂肪酶和胰蛋白酶的活性则升高。然而, 有关温度对消化酶活性的影响以鱼类、爬行类、甲壳类动物研究得较多<sup>[9–11]</sup>。关于温度对昆虫消化酶活性的影响还未见相关报道。消化酶活性的高低决定了昆虫对营养物质消化、吸收的能力, 从而影响昆虫生长发育速度。研究寄主植物及环境因子对昆虫消化酶活性的影响, 可为深入探讨昆虫与环境适应性的生理生化机制奠定基础。金银花尺蠖 *Heterolochoa jinyinhuaphaga* 属鳞翅目 Lepidoptera 尺蛾科 Geometridae 昆虫, 别名拱腰虫, 是金银花 *Lonicera japonica* 主要食叶害虫之一, 常将金银花叶片咬成缺刻或孔洞, 甚至全部吃光, 常造成金银花的大面积减产, 甚至成片死亡, 给金银花生产带来严重损失<sup>[12–14]</sup>。目前, 国内关于金银花尺蠖生物学特性及防治已有较多研究<sup>[12–16]</sup>, 而寄主植物及环境因子对其幼虫消化酶活性的影响还未见相关报道。本研究探讨了不同寄主植物、温度对金银花尺蠖幼虫淀粉酶、蔗糖酶、蛋白酶和脂肪酶活性的影响, 分析金银花尺蠖幼虫对不同环境因子的生理生化适应性, 为深入研究金银花尺蠖环境适应性的生理生化机制提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试虫源

金银花尺蠖幼虫采集于安徽省明光市三界镇野生金银花上, 带回, 在人工气候箱(RXZ-288A 型, 宁波江南仪器制造厂)中饲养。设置人工气候箱光周期为 14 h/10 h, 温度为(25±1) °C, 相对湿度为 70%±7%。将幼虫放在 600 mL 的罐头瓶内(每瓶放 10 头幼虫), 每天采摘新鲜的金银花叶片饲养。待其化蛹

后，用湿润纱布铺于瓶底，每天定期检查羽化情况，把同日羽化的雌雄成虫配对后放于同一养虫笼内，用质量分数为 10% 的蔗糖水作食物，让其交配产卵。

### 1.2 寄主植物对金银花尺蠖幼虫消化酶活性的影响

取刚孵化的金银花尺蠖幼虫，单头放在罐头瓶中，然后放在人工气候箱中[光周期设置为 14 h/10 h，温度设置为(25±1) °C，相对湿度设置为 70%±7%]，分别用 4 种金银花（‘九丰 1 号’ ‘Jiufeng No. 1’、‘响水 1 号’ ‘Xiangshui No. 1’、‘响水 2 号’ ‘Xiangshui No. 2’、野生种）新鲜叶片饲养，用湿棉花包裹叶片基部以保持叶片新鲜，每天 9:00 更换新鲜叶片，一直饲养到 5 龄(根据头壳宽度判断)。每种金银花 1 次饲养 20 头幼虫，重复 4 次。

### 1.3 温度对金银花尺蠖幼虫消化酶活性的影响

25 °C 左右是金银花尺蠖取食的最适温度<sup>[17]</sup>，因此，设 16、19、22、25、28、31、34 °C 等 7 个温度处理，设置光照周期为 14 h/10 h，相对湿度为 70%。取刚孵化的金银花尺蠖幼虫，单头放在各个罐头瓶中，并放入新鲜金银花（‘九丰 1 号’）叶片(用湿棉花包裹叶片基部以保持叶片新鲜，每天定时更换叶片)，一直饲养到 5 龄。每个温度处理下 1 次饲养 20 头幼虫。重复 4 次。

### 1.4 酶液制备

每处理挑取大小一致的 5 龄幼虫 10 头，用去离子水洗净，滤纸擦干，冰浴中迅速取出中肠，加入预冷的磷酸盐缓冲溶液(PBS, 0.02 mol·L<sup>-1</sup>, pH 8.0)5.0 mL，迅速研磨成匀浆，离心 15 min(-4 °C, 15 000 r·min<sup>-1</sup>)，取上清液作酶液。以牛血清蛋白(BSA)为标准蛋白，采用考马斯亮蓝 G-250 染色法测定样品蛋白含量<sup>[18]</sup>。

### 1.5 淀粉酶活性测定

采用 3, 5-二硝基水杨酸法<sup>[19]</sup>。在试管中分别加入酶液 80 μL、质量分数为 2% 淀粉 0.2 mL 和 0.2 mol·L<sup>-1</sup> PBS (pH 6.0) 0.8 mL，摇匀，室温下反应 10 min，37 °C 水浴中保温 60 min，加入 3, 5-二硝基水杨酸 1.0 mL 终止反应，沸水浴加热 5 min，冷却后于 550 nm 波长测吸光值。空白对照用 80 μL 0.2 mol·L<sup>-1</sup> PBS (pH 6.0) 代替酶液。采用麦芽糖标准曲线计算样品反应后麦芽糖的含量。淀粉酶活性以每分钟每克样品蛋白催化水解生成麦芽糖的量(mmol·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>)表示。重复 4 次。

### 1.6 蔗糖酶活性测定

采用 3, 5-二硝基水杨酸法<sup>[19]</sup>。在试管中分别加入酶液 80 μL、质量分数为 4% 蔗糖 0.2 mL 和 0.2 mol·L<sup>-1</sup> PBS (pH 5.8) 0.8 mL，摇匀，室温下反应 10 min，37 °C 水浴中保温 60 min，加 3, 5-二硝基水杨酸 1.0 mL 终止反应，沸水浴加热 5 min，冷却后于 550 nm 波长测吸光值。用 80 μL 0.2 mol·L<sup>-1</sup> PBS (pH 5.8) 代替酶液做空白对照。采用葡萄糖标准曲线计算样品反应后葡萄糖含量。蔗糖酶活性以每分钟每克样品蛋白催化水解生成葡萄糖的量(mmol·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>)表示。重复 4 次。

### 1.7 蛋白酶活性测定

采用福林-酚法<sup>[7]</sup>。在试管中加入酶液 40 μL 和质量分数为 0.5% 酪蛋白溶液 100 μL，混匀后水浴 15 min(37 °C)，加入质量分数为 10% 三氯乙酸 100 μL，混匀，离心 15 min (10 000 r·min<sup>-1</sup>, 4 °C)。取上清液 150 μL，分别加入 0.55 mol·L<sup>-1</sup> 碳酸钠溶液 750 μL 和 Folin-酚试剂 150 μL，混匀后水浴 15 min (37 °C)，然后于 680 nm 处测量吸光值。空白对照以缓冲液代替酶液，采用酪氨酸标准曲线计算样品反应后酪氨酸含量。蛋白酶活性以每分钟每克样品蛋白催化水解生成酪氨酸的量(mmol·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>)表示。重复 4 次。

### 1.8 脂肪酶活性测定

采用标准氢氧化钠溶液滴定法<sup>[7]</sup>。取 PBS 缓冲液(0.025 mol·L<sup>-1</sup>, pH 7.5) 0.5 mL，放入 10 mL 试管中，加入聚乙烯醇橄榄油乳液 0.4 mL，摇匀，40 °C 水浴加热 10 min，加入酶液 0.5 mL，继续加热 20 min (40 °C 水浴)，加入体积分数为 95% 乙醇 1.5 mL 和 1 滴体积分数为 1% 酚酞指示剂。用标准氢氧化钠溶液(0.05 mol·L<sup>-1</sup>)滴定至微红色，记录所消耗的氢氧化钠体积。脂肪酶活性以每分钟每克样品蛋白催化水解生成脂肪酸的量(mmol·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>)表示。对照以缓冲液代替酶液。重复 4 次。

### 1.9 数据分析

用 SPSS 11.5 进行方差分析，采用 Duncan 氏新复极差法在  $P < 0.05$  水平上进行差异显著性检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 寄主植物对金银花尺蠖幼虫消化酶活性的影响

取食不同金银花后,金银花尺蠖各龄幼虫的消化酶活性均不相同(表1)。取食野生金银花的淀粉酶、蔗糖酶和蛋白酶活性最高,在1龄幼虫中分别为18.37、26.45和22.31 mmol·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>。1龄幼虫取食野生金银花、‘九丰1号’和‘响水2号’的淀粉酶活性之间差异不显著( $F_{3,8}=3.147$ ,  $P=0.954$ ),但与响水1号差异显著( $P<0.05$ );1龄幼虫取食这4种寄主植物的蔗糖酶活性之间( $F_{3,8}=1.379$ ,  $P=0.317$ )、蛋白酶活性( $F_{3,8}=2.455$ ,  $P=0.138$ )之间差异不显著。取食‘响水1号’的脂肪酶活性最高,在1龄幼虫中为7.54 mmol·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>,取食野生金银花的脂肪酶活性最低,在1龄幼虫中为5.54 mmol·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>。1龄幼虫取食‘九丰1号’、‘响水1号’和‘响水2号’的脂肪酶活性之间,以及取食‘响水2号’与野生金银花的脂肪酶活性之间差异不显著( $F_{3,8}=2.238$ ,  $P=0.061$ )。

金银花尺蠖幼虫取食‘九丰1号’、‘响水1号’、‘响水2号’和野生金银花的淀粉酶、蔗糖酶、蛋白酶和脂肪酶活性均随着幼虫龄期的增加而增大,5龄幼虫取食这4种金银花的淀粉酶活性分别为23.45、19.67、21.65和26.69 mmol·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>,分别比1龄幼虫增加了33.39%、27.48%、33.31%和45.29%。5龄幼虫取食这4种金银花的蔗糖酶活性分别为30.53、27.79、28.34和34.29 mmol·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>,分别比1龄幼虫增加了19.12%、15.02%、14.64%和29.64%。5龄幼虫取食这4种金银花的蛋白酶活性分别为27.42、23.12、24.74和31.56 mmol·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>,分别比1龄幼虫增加了25.55%、18.69%、21.69%和41.46%。5龄幼虫取食这4种金银花的脂肪酶活性分别为11.43、12.67、11.57和9.85 mmol·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>,分别比1龄幼虫增加了84.95%、68.04%、68.41%和77.80%。方差分析显示:寄主植物、幼虫龄期对金银花尺蠖幼虫4种消化酶活性均有显著影响( $P<0.05$ ),但寄主植物和幼虫龄期的交互作用对金银花尺蠖幼虫4种消化酶活性没有显著影响( $P>0.05$ )。

### 2.2 温度对金银花尺蠖幼虫消化酶活性的影响

不同温度下金银花尺蠖取食‘九丰1号’鲜叶后,各龄幼虫消化酶活性均不相同(表2),在16~34℃均呈先上升后下降的趋势。1~5龄幼虫的淀粉酶活性在22℃最高,分别为19.95、20.57、21.79、23.64和25.86 mmol·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>,高于或低于22℃,淀粉酶活性均下降;1~5龄幼虫的蔗糖酶活性也在22

表1 不同寄主植物下金银花尺蠖幼虫4种消化酶活性的变化

Table 1 Change of host plants on four digestive enzymes activities in *H. jinyinhuaphaga* larva

消化酶	寄主植物	酶活性/(mmol·g <sup>-1</sup> ·min <sup>-1</sup> )				
		1龄	2龄	3龄	4龄	5龄
淀粉酶	‘九丰1号’	17.58 ± 1.23 ABc	18.28 ± 1.42 ABc	19.73 ± 1.52 Bbc	21.21 ± 1.34 Bab	23.45 ± 1.35 ABa
	‘响水1号’	15.43 ± 1.18 Cc	16.13 ± 0.86 Cbc	16.87 ± 1.64 Cbc	18.35 ± 1.53 Cab	19.67 ± 1.54 Ca
	‘响水2号’	16.24 ± 1.11 ABc	16.95 ± 0.77 Cc	18.11 ± 1.36 BCbc	19.37 ± 1.25 BCb	21.65 ± 1.45 BCa
	野生金银花	18.37 ± 1.58 Ac	19.43 ± 1.51 Ac	22.56 ± 1.24 Ab	24.32 ± 1.65 Aab	26.69 ± 2.37 Aa
蔗糖酶	‘九丰1号’	25.63 ± 1.22 Ab	26.33 ± 2.21 Ab	27.37 ± 1.59 Aab	28.46 ± 1.61 ABab	30.53 ± 2.41 ABa
	‘响水1号’	24.16 ± 1.77 Ab	25.23 ± 1.74 Aab	26.11 ± 1.79 Aab	27.15 ± 1.89 Bab	27.79 ± 1.66 Ba
	‘响水2号’	24.72 ± 1.57 Ab	25.89 ± 1.66 Aab	26.75 ± 1.63 Aab	27.81 ± 1.67 Bab	28.34 ± 1.67 Ba
	野生金银花	26.45 ± 1.33 Ac	27.61 ± 2.38 Ac	29.48 ± 2.37 Abc	31.65 ± 2.43 Aab	34.29 ± 1.41 Aa
蛋白酶	‘九丰1号’	21.84 ± 1.72 Ac	22.64 ± 1.43 ABbc	23.73 ± 1.61 ABbc	25.25 ± 1.88 Bab	27.42 ± 1.67 Ba
	‘响水1号’	19.48 ± 0.85 Aa	20.26 ± 1.79 Ba	21.32 ± 1.87 Ba	22.26 ± 1.83 Ba	23.12 ± 2.48 Ca
	‘响水2号’	20.33 ± 1.69 Ac	20.95 ± 1.74 ABc	22.12 ± 1.76 Bab	23.31 ± 1.84 Bab	24.74 ± 1.65 BCa
	野生金银花	22.31 ± 1.38 Ac	23.54 ± 1.42 Ac	26.72 ± 1.57 Ab	28.83 ± 1.62 Aab	31.56 ± 2.33 Aa
脂肪酶	‘九丰1号’	6.18 ± 0.86 ABd	6.96 ± 0.84 ABcd	8.24 ± 0.78 ABbc	9.31 ± 0.68 Bb	11.43 ± 0.86 ABa
	‘响水1号’	7.54 ± 0.71 Ad	8.16 ± 0.91 Acd	9.23 ± 0.68 Ac	10.74 ± 0.56 Ab	12.67 ± 0.82 Aa
	‘响水2号’	6.87 ± 0.75 ABc	7.55 ± 0.79 ABbc	8.29 ± 0.92 ABbc	8.93 ± 0.76 Bb	11.57 ± 0.94 ABa
	野生金银花	5.54 ± 0.78 Bd	6.29 ± 0.71 Bcd	7.32 ± 0.87 Bbc	8.56 ± 0.81 Bab	9.85 ± 0.73 Ba

说明:数据为平均值±标准差。同列数据后不同大写字母和同行数据后不同小写字母均表示差异显著( $P<0.05$ )

℃最高，分别为 27.65、28.89、29.85、31.45 和 32.89  $\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ ，高于或低于 22 ℃，蔗糖酶活性均下降；1~5 龄幼虫的蛋白酶活性在 25 ℃时最高，分别为 21.65、22.76、23.43、25.71 和 26.98  $\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ ，高于或低于 25 ℃，蛋白酶活性均下降；1~5 龄幼虫的脂肪酶活性在 28 ℃时最高，分别为 7.38、8.49、9.81、11.33 和 13.21  $\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ ，高于或低于 28 ℃，脂肪酶活性均下降。方差分析显示：温度和幼虫龄期的交互作用对金银花尺蠖幼虫 4 种消化酶活性没有显著影响( $P>0.05$ )。

根据不同温度下金银花尺蠖 1~5 龄幼虫 4 种消化酶活性的变化趋势进行回归分析，回归模型见表 3。对模型进行计算，得出金银花尺蠖 1~5 龄幼虫淀粉酶活性最高的温度分别为 21.39、20.60、20.48、20.50 和 21.20 ℃；蔗糖酶活性最高的温度分别为 21.83、21.11、20.89、20.96 和 21.12 ℃；蛋白酶活性最高的温度分别为 24.70、24.97、25.51、25.24 和 24.35 ℃；脂肪酶活性最高的温度分别为 28.41、28.08、27.52、28.69 和 29.30 ℃。

### 3 讨论

昆虫体内的消化酶活性与取食密切相关。昆虫取食寄主植物后依靠消化酶将其中的营养物质转化为自身所需的物质，消化酶活性的高低在一定程度上反映了昆虫所需营养的种类，以及各类营养物质被昆

表 2 不同温度下金银花尺蠖幼虫 4 种消化酶活性的变化

Table 2 Change of temperature on four digestive enzymes activities in *H. jinyinhuaphaga* larva

消化酶	温度/℃	酶活性/( $\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ )				
		1 龄	2 龄	3 龄	4 龄	5 龄
淀粉酶	16	15.51 ± 1.05 CDd	17.64 ± 1.13 Bcd	18.78 ± 0.72 BCbc	20.37 ± 0.73 BCab	21.76 ± 0.87 Ba
	19	17.73 ± 0.61 Bc	19.17 ± 1.39 ABbc	20.32 ± 0.85 ABb	21.53 ± 0.82 Bab	23.31 ± 0.94 ABa
	22	19.95 ± 0.83 Ac	20.57 ± 1.44 Ac	21.79 ± 0.96 Abc	23.64 ± 0.87 Aab	25.86 ± 0.89 Aa
	25	17.82 ± 1.19 Bc	18.43 ± 1.28 ABc	19.58 ± 0.84 ABCbc	21.35 ± 0.71 Bab	23.68 ± 0.83 ABa
	28	15.87 ± 0.74 Cc	16.89 ± 0.83 Bbc	17.26 ± 0.74 CDbc	18.83 ± 0.42 CDb	21.47 ± 0.78 Ba
	31	13.74 ± 1.31 Dc	14.36 ± 1.47 Cbc	15.65 ± 0.88 DEbc	16.78 ± 0.89 DEab	18.69 ± 0.77 Ca
	34	11.45 ± 1.24 Ec	12.78 ± 1.29 Cbc	13.98 ± 1.06 Ebc	15.32 ± 0.51 Eab	16.75 ± 0.88 Ca
蔗糖酶	16	22.72 ± 0.93 Dd	24.36 ± 0.53 Ccd	25.67 ± 0.84 BCbc	26.87 ± 0.43 Cab	28.53 ± 0.76 BCa
	19	25.31 ± 0.97 BCc	26.63 ± 0.85 Bbc	28.17 ± 0.38 ABab	29.22 ± 0.70 Bab	30.65 ± 0.96 ABa
	22	27.65 ± 0.89 Ac	28.89 ± 0.45 Ac	29.85 ± 0.99 Abc	31.45 ± 0.71 Aab	32.89 ± 0.44 Aa
	25	25.78 ± 0.36 ABc	26.65 ± 0.88 Bbc	27.76 ± 0.86 ABbc	28.91 ± 0.44 Bab	30.67 ± 0.89 ABa
	28	23.45 ± 0.71 CDc	24.57 ± 0.72 BCbc	25.61 ± 0.83 BCbc	26.78 ± 0.39 Cab	28.44 ± 0.76 BCa
	31	21.36 ± 0.70 Dc	22.46 ± 0.77 CDbc	23.55 ± 0.73 CDabc	24.76 ± 0.92 Dab	26.19 ± 1.04 CDa
	34	18.93 ± 0.42 Ec	21.15 ± 0.85 Dbc	22.39 ± 0.71 Db	23.51 ± 0.74 Dab	24.79 ± 0.95 Da
蛋白酶	16	12.22 ± 0.62 Dd	14.38 ± 0.73 Dcd	16.13 ± 0.51 Dbc	18.37 ± 0.72 Cab	19.89 ± 0.45 Ea
	19	15.61 ± 0.79 Cd	17.23 ± 0.64 Ccd	18.31 ± 0.91 CDbc	20.57 ± 0.82 CDab	22.17 ± 0.91 DEa
	22	19.32 ± 1.02 Bc	20.19 ± 1.06 Bc	21.15 ± 0.53 ABbc	23.23 ± 0.68 Bab	24.67 ± 0.86 Ba
	25	21.65 ± 0.83 Ac	22.76 ± 0.94 Ac	23.43 ± 0.75 Abc	25.71 ± 0.81 Aab	26.98 ± 0.53 Aa
	28	18.24 ± 0.65 Bd	20.48 ± 0.47 ABcd	21.79 ± 0.89 Abc	23.52 ± 0.66 ABab	24.54 ± 0.81 BCa
	31	15.81 ± 0.39 Cc	17.67 ± 0.83 Cbc	19.22 ± 0.52 BCb	21.25 ± 0.43 BCab	22.35 ± 0.70 CDa
	34	13.55 ± 1.03 CDd	15.23 ± 0.51 CDcd	16.82 ± 0.69 Dbc	18.87 ± 0.59 Dab	20.28 ± 1.01 DEa
脂肪酶	16	2.48 ± 0.36 Dd	3.63 ± 0.45 Dcd	4.69 ± 0.48 Dbc	5.93 ± 0.43 Dab	7.05 ± 0.40 Da
	19	3.56 ± 0.47 CDd	4.72 ± 0.39 CDcd	5.88 ± 0.41 CDbc	7.19 ± 0.55 CDab	8.43 ± 0.70 CDa
	22	4.85 ± 0.42 BCd	5.91 ± 0.46 BCcd	7.17 ± 0.82 BCbc	8.31 ± 0.67 BCab	9.86 ± 0.81 BCa
	25	6.23 ± 0.39 ABd	7.11 ± 0.73 ABcd	8.46 ± 0.66 ABbc	9.52 ± 0.61 ABb	11.68 ± 0.83 ABa
	28	7.38 ± 0.59 Ad	8.49 ± 0.72 Acd	9.81 ± 0.61 Abc	11.33 ± 0.86 Aab	13.21 ± 0.79 Aa
	31	5.83 ± 0.41 Bd	6.86 ± 0.64 ABcd	8.28 ± 0.67 ABbc	9.67 ± 0.76 ABab	11.55 ± 0.76 ABa
	34	4.26 ± 0.45 Cd	5.45 ± 0.47 BCcd	6.57 ± 0.50 BCDbc	8.12 ± 0.69 BCab	9.78 ± 0.72 BCa

说明：数据为平均值±标准差。同列数据后不同大写字母和同行数据后不同小写字母均表示差异显著( $P<0.05$ )

表3 金银花尺蠖幼虫4种消化酶活性( $y$ )与温度( $x$ )间的回归模型Table 3 Regression model about four digestive enzymes activities ( $y$ ) in *H. jinyinhuaphaga* larva at different temperatures ( $x$ )

消化酶	幼虫龄期/龄	回归模型	相关系数	酶活性最高时的温度/°C
淀粉酶	1	$y_1=0.004 1x^3-0.367 5x^2+10.093 0x-68.973$	0.986 1	21.39
	2	$y_2=0.003 7x^3-0.325 1x^2+8.683 8x-53.542$	0.990 1	20.60
	3	$y_3=0.004 5x^3-0.381 4x^2+9.960 5x-61.667$	0.987 5	20.48
	4	$y_4=0.004 6x^3-0.393 4x^2+10.329 0x-63.504$	0.979 3	20.50
	5	$y_5=0.004 1x^3-0.367 1x^2+10.036 0x-62.049$	0.980 7	21.20
蔗糖酶	1	$y_1=0.004 5x^3-0.400 1x^2+11.034 0x-69.967$	0.987 9	21.83
	2	$y_2=0.005 4x^3-0.459 6x^2+12.185 0x-75.448$	0.982 5	21.11
	3	$y_3=0.005 7x^3-0.479 7x^2+12.580 0x-76.494$	0.990 8	20.89
	4	$y_4=0.005 9x^3-0.496 0x^2+13.016 0x-78.943$	0.981 8	20.96
	5	$y_5=0.005 4x^3-0.460 3x^2+12.218 0x-71.690$	0.984 0	21.12
蛋白酶	1	$y_1=0.002 3x^3-0.263 7x^2+8.817 4x-71.174$	0.957 9	24.70
	2	$y_2=0.000 1x^3-0.095 2x^2+ 4.566 9x-35.206$	0.964 9	24.97
	3	$y_3=-0.000 9x^3-0.010 1x^2+2.272 8x-14.391$	0.967 1	25.51
	4	$y_4=-0.000 5x^3-0.039 0x^2+2.923 9x-16.821$	0.959 3	25.24
	5	$y_5=0.000 3x^3-0.098 6x^2+ 4.268 2x-24.965$	0.954 7	24.35
脂肪酶	1	$y_1=-0.003 1x^3+0.196 1x^2-3.636 2x+23.157$	0.983 8	28.41
	2	$y_2=-0.003 0x^3+0.189 1x^2-3.524 1x+23.833$	0.977 0	28.08
	3	$y_3=-0.003 3x^3+0.206 2x^2-3.851 6x+26.861$	0.984 7	27.52
	4	$y_4=-0.003 4x^3+0.220 0x^2-4.228 1x+31.255$	0.974 0	28.69
	5	$y_5=-0.003 8x^3+0.246 5x^2-4.658 6x+34.232$	0.985 3	29.30

虫利用的状况,常可以用来表示昆虫对植物的嗜食程度<sup>[20]</sup>。在取食不同寄主植物时,昆虫可以根据自身生长发育的需求调节体内消化酶的活性<sup>[8]</sup>。本研究表明:金银花尺蠖各龄幼虫取食野生金银花的淀粉酶、蔗糖酶、蛋白酶活性均高于其他寄主,而脂肪酶活性低于其他寄主。向玉勇等<sup>[21]</sup>研究发现:金银花尺蠖幼虫对4个品种金银花的取食量大小均从高到低依次为野生品种、‘九丰1号’、‘响水2号’、‘响水1号’,野生金银花叶片可溶性糖含量、蛋白质含量均高于其他寄主,脂肪含量低于其他寄主。这说明金银花尺蠖幼虫取食营养成分含量高的寄主时,其消化酶活性会升高。这可能是金银花尺蠖对不同寄主的一种自我生理调节,取食营养成分含量高的寄主时,通过提高自身消化酶活性分解大量的营养物质,以保证机体的快速生长。但其他种类昆虫则存在不一致的现象,如棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 幼虫在取食糖类含量较高的寄主植物时,淀粉酶活性会下降,在取食蛋白含量高的寄主植物时,中肠蛋白酶活性会下降<sup>[22]</sup>;椰心叶甲 *Brontispa longissima* 5龄幼虫取食营养丰富的叶片后,中肠的蔗糖酶、淀粉酶、蛋白酶及脂肪酶活性均显著下降<sup>[7]</sup>。这说明取食不同寄主植物时,不同昆虫的消化酶活性变化存在差异,这些昆虫体内可能存在另一种机制,当寄主植物营养成分含量高时,利用较低的消化酶活性就可以满足机体的新陈代谢<sup>[23]</sup>。金银花尺蠖幼虫取食金银花的淀粉酶、蔗糖酶、蛋白酶和脂肪酶活性均随着幼虫龄期的增加而增大。寄主植物和幼虫龄期的交互作用对金银花尺蠖幼虫4种消化酶活性没有显著影响。

温度是影响昆虫生理代谢过程的重要环境因子。不同温度下金银花尺蠖各龄幼虫体内淀粉酶、蔗糖酶、蛋白酶和脂肪酶活性均不一样,在16~34℃,这4种消化酶活性均随着温度的升高表现为先上升后下降的趋势。在波纹龙虾 *Panulirus homarus*<sup>[11]</sup>、嘉陵江鲇 *Silurus asotus*<sup>[24]</sup>等其他变温动物也存在类似现象。这可能是低温下这些酶的活化分子数比较少,催化食物分解的反应速率低,随着温度上升,酶的活化分子逐渐增多,催化反应速率加快,酶的催化活性增强,高温下这些酶蛋白发生变性,酶的催化活性又下降。在刺参 *Apostichopus japonicus*<sup>[25]</sup>中却存在不一致的现象,在6~21℃,其胰蛋白酶与淀粉酶活力随水温升高呈先升高后降低的趋势,而脂肪酶活力随着养殖水温升高呈下降趋势。这表明:不同种类动物的消化酶对温度的耐受性存在差异。金银花尺蠖各龄幼虫体内4种消化酶的最适温度不同,淀粉

酶和蔗糖酶活性在 22 ℃最高, 蛋白酶活性在 25 ℃时最高, 脂肪酶活性在 28 ℃时最高。这与金银花尺蠖的生长气候条件相吻合, 金银花在春夏季生长迅速, 尤其在夏季多雨期, 而金银花尺蠖消化酶活性恰好在 22~28 ℃最高, 有利于对食物的消化, 加速生长发育, 导致其大发生。

总之, 寄主植物、温度均对金银花尺蠖幼虫消化酶活性产生影响, 不同寄主植物不仅含有不同含量的营养物质, 而且还含有不同的抑制因子以及次生代谢物质, 寄主植物的任何变化都会影响消化酶的活性及随后的生理过程<sup>[26,8]</sup>。因此, 还应进一步研究不同寄主植物的次生物质与金银花尺蠖幼虫体内消化酶活性的变化情况, 以更深入地阐明金银花尺蠖与环境适应性的生理生化机制。

#### 4 参考文献

- [1] 顾方媛, 陈朝银, 石家骥, 等. 纤维素酶的研究进展与发展趋势[J]. 微生物学杂志, 2008, **28**(1): 83 – 87.  
GU Fangyuan, CHEN Zhaoyin, SHI Jiaji, *et al.* Advance in cellulose and its development tendency [J]. *J Microbiol*, 2008, **28**(1): 83 – 87.
- [2] 孔玉萍, 黄青春, 刘曼慧, 等. 粘虫中肠淀粉酶活性测定方法的参数优化[J]. 昆虫学报, 2007, **50**(10): 981 – 988.  
KONG Yuping, HUANG Qingchun, LIU Manhui, *et al.* Parametric optimization on the sensitive determination of midgut-amylase in larvae of *Mythimna separata* Walker [J]. *Acta Entomol Sin*, 2007, **50**(10): 981 – 988.
- [3] MORGAN E D. *Biosynthesis in Insects* [M]. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2010.
- [4] SUI Yiping, WANG Jinxing, ZHAO Xiaofan. Effects of classical insect hormones on the expression profiles of a lipase gene from the cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*) [J]. *Insect Mol Biol*, 2008, **17**(5): 523 – 529.
- [5] ZENG F, COHEN A C. Comparison of  $\alpha$ -amylase and protease activities of a zoophytophagous and two phytozoophagous Heteroptera [J]. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 2000, **126**(1): 101 – 106.
- [6] 贾冰, 谭瑶, 付晓彤, 等. 不同寄主植物对牧草盲蝽生长发育、繁殖及消化酶活性的影响[J]. 草业科学, 2018, **35**(8): 1975 – 1984.  
JIA Bin, TAN Yao, FU Xiaotong, *et al.* Effect of host plants on development, reproduction, and digestive enzyme activity in *Lygus pratensis* [J]. *Pratacultural Sci*, 2018, **35**(8): 1975 – 1984.
- [7] 李艺琼, 姚羽芯, 彭正强, 等. 不同生长阶段椰树叶片对椰心叶甲中肠消化酶活性的影响[J]. 江苏农业科学, 2017, **45**(7): 94 – 97.  
LI Yiqiong, YAO Yuxin, PENG Zhengqiang, *et al.* Effect of palm tree leaves with different growth phases on midgut digestive enzyme activity of *Brontispa longissima* [J]. *Jiangsu Agric Sci*, 2017, **45**(7) : 94 – 97.
- [8] 姜丽娜, 钱蕾, 喜超, 等. CO<sub>2</sub> 浓度升高对不同寄主植物上西花蓟马和花蓟马成虫体内消化酶活性的影响[J]. 昆虫学报, 2017, **60**(3): 237 – 246.  
JIANG Lina, QIAN Lei, XI Chao, *et al.* Effects of elevated CO<sub>2</sub> on the digestive enzyme activities in the adults of *Frankliniella occidentalis* and *F. intonsa* (Thysanoptera: Thripidae) on different host plants [J]. *Acta Entomol Sin*, 2017, **60**(3): 237 – 246.
- [9] 刘峰, 刘阳阳, 楼宝, 等. 温度对小黄鱼体内抗氧化酶及消化酶活性的影响[J]. 海洋学报, 2016, **38**(12): 76 – 85.  
LIU Feng, LIU Yangyang, LOU Bao, *et al.* Effect of water temperature on antioxidant and digestive enzymes activities in *Larimichthys polyactis* [J]. *Haiyang Xuebao*, 2016, **38**(12): 76 – 85.
- [10] 张建萍, 王强, 李小鲁. 温度对南疆沙蜥和密点麻蜥消化酶活性的影响[J]. 四川动物, 2019, **38**(2): 200 – 205.  
ZHANG Jianping, WANG Qiang, LI Xiaolu. Effect of temperature on digestive enzyme activities in *Phrynocephalus forsythii* and *Eremias multiocellata* [J]. *J Sichuan Zool*, 2019, **38**(2): 200 – 205.
- [11] 黄东科, 梁华芳, 温崇庆, 等. 温度对波纹龙虾消化酶活力的影响[J]. 渔业现代化, 2017, **44**(6): 32 – 36, 42.  
HUANG Dongke, LIANG Huafang, WEN Chongqing, *et al.* Effects of different temperatures on the digestive enzyme activities in the *Panulirus homarus* [J]. *Fish Modernization*, 2017, **44**(6): 32 – 36, 42.
- [12] 姜敏, 邵明果, 赵伯林. 金银花尺蠖的生物学特性及防治技术[J]. 山东林业科技, 2005(1): 62 – 63.  
JIANG Min, SHAO Mingguo, ZHAO Bolin. Biology characteristic of *Heterolochoa jinyinhuaaphaga* Chu and the control methods [J]. *Shandong For Sci Technol*, 2005(1): 62 – 63.

- [13] 张文冉, 高殿滑, 刘爱华. 金银花尺蠖的发生与气象条件的关系[J]. 气象与环境科学, 2007, **30**(4): 60 – 62.  
ZHANG Wenran, GAO Dianhua, LIU Aihua. Relationships between honeysuckle geometrid occurrence and meteorological condition [J]. *Meteo and Envi Sci*, 2007, **30**(4): 60 – 62.
- [14] 向玉勇, 刘克忠, 殷培峰, 等. 安徽金银花尺蠖的生物学特性[J]. 滁州学院学报, 2010, **12**(5): 35 – 37.  
XIANG Yuyong, LIU Kezhong, YIN Peifeng, *et al.* The biological characteristics of honeysuckle geometrid in Anhui Province [J]. *J Chuzhou Univ*, 2010, **12**(5): 35 – 37.
- [15] 王广军, 张国彦, 王江蓉. 金银花尺蠖的发生规律与防治技术[J]. 中国植保导刊, 2005, **25**(3): 22 – 23.  
WANG Guangjun, ZHANG Guoyan, WANG Jiangrong. Occuring laws of *Heterolocha jinyinhuaphaga* Chu and the control methods [J]. *Chin Plant Prot*, 2005, **25**(3): 22 – 23.
- [16] 倪云霞, 刘新涛, 刘玉霞, 等. 金银花尺蠖的药剂防治[J]. 河南农业科学, 2006(12): 78 – 79.  
NI Yunxia, LIU Xintao, LIU Yuxia, *et al.* Pesticide control to *Heterolocha jinyinhuaphaga* Chu [J]. *J Henan Agric Sci*, 2006(12): 78 – 79.
- [17] 向玉勇, 彭晶晶, 张帆, 等. 温度对金银花尺蠖幼虫取食量及食物利用效率的影响[J]. 环境昆虫学报, 2015, **37**(6): 1158 – 1162.  
XIANG Yuyong, PENG Jingjing, ZHANG Fan, *et al.* Effects of temperature on the feeding capacity and food utilization efficiency of *Heterolocha jinyinhuaphaga* Chu larvae [J]. *J Environ Entomol*, 2015, **37**(6): 1158 – 1162.
- [18] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Anal Biochem*, 1976, **72**(1/2): 248 – 254.
- [19] 李志刚, 韩诗畴, 郭明方, 等. 取食不同食料植物对安婀珍蝶的营养利用及中肠四种酶活力的影响[J]. 昆虫学报, 2015, **48**(5): 674 – 678.  
LI Zhigang, HAN Shichou, GUO Mingfang, *et al.* Effects of feeding on different food plants on nutritional utilization and midgut enzyme activities in *Actinote anteus* (Lepidoptera: Nymphalidae) [J]. *Acta Entomol Sin*, 2005, **48**(5): 674 – 678.
- [20] WRIGHT M K, BRANDT S L, COUDRON T A, *et al.* Characterization of digestive proteolytic activity in *Lygus hesperus* Knight (Hemiptera: Miridae) [J]. *J Insect Physiol*, 2006, **52**(7): 717 – 728.
- [21] 向玉勇, 陈洋, 殷培峰. 金银花尺蠖对金银花不同品种的取食选择[J]. 植物保护学报, 2016, **43**(5): 745 – 751.  
XIANG Yuyong, CHEN Yang, YIN Peifeng. Feeding preference of honeysuckle geometrid *Heterolocha jinyinhuaphaga* Chu to different varieties of honeysuckle [J]. *J Plant Prot*, 2016, **43**(5): 745 – 751.
- [22] KOTKAR H M, SARATE P J, TAMHANE V A, *et al.* Responses of midgut amylases of *Helicoverpa armigera* to feeding on various host plants [J]. *J Insect Physiol*, 2009, **55**(8): 663 – 670.
- [23] 李亚, 程立生, 彭正强, 等. 寄主植物叶片生长阶段对椰心叶甲幼虫生长发育的影响[J]. 热带农业科学, 2006, **26**(5): 17 – 20.  
LI Ya, CHENG Lisheng, PENG Zhengqiang, *et al.* Influence of developmental stage of host plant leaves on the larval development and survival of *Brontispa longissima* (Gestro) [J]. *Trop Agric Sci*, 2006, **26**(5): 17 – 20.
- [24] 向泉, 周兴华, 陈建, 等. 温度对嘉陵江鲂消化酶活性影响的研究[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2013, **35**(11): 67 – 73.  
XIANG Xiao, ZHOU Xinghua, CHEN Jian, *et al.* Effect of temperature on the activities of digestive enzymes in catfish (*Silurus asotus* Linnaeus) in the Jialing River [J]. *J Southwest Univ Nat Sci Ed*, 2013, **35**(11): 67 – 73.
- [25] 茹小尚, 高天翔, 刘石林, 等. 温度对刺参繁殖期消化酶和代谢酶活力的影响[J]. 海洋科学, 2015, **39**(3): 1 – 6.  
RU Xiaoshang, GAO Tianxiang, LIU Shilin, *et al.* Effects of temperature on digestive and metabolic enzymes activities of sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) broodstock [J]. *Mar Sci*, 2015, **39**(3): 1 – 6.
- [26] 张文辉, 刘光杰. 植物抗虫性次生物质的研究概况[J]. 植物学通报, 2003, **20**(5): 552 – 530.  
ZHANG Wenhui, LIU Guangjie. A review on plant secondary substances in plant resistances to insect pest [J]. *Chin Bull Bot*, 2003, **20**(5): 552 – 530.