

引用格式: 向玉勇, 张妍, 陶翠玲. 温度对金银花尺蠖幼虫、蛹和成虫 4 种酶活性的影响[J]. 浙江农林大学学报, 2025, 42(3): 554–563. XIANG Yuyong, ZHANG Yan, TAO Cuiling. Effect of temperature on the activity of 4 enzymes in *Heterolocha jinyinhuaphaga*[J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2025, 42(3): 554–563.

温度对金银花尺蠖幼虫、蛹和成虫 4 种酶活性的影响

向玉勇, 张妍, 陶翠玲

(滁州学院 生物与食品工程学院, 安徽 滁州 239000)

摘要: 【目的】探究温度对金银花尺蠖 *Heterolocha jinyinhuaphaga* 体内酶活性的影响。【方法】试验用金银花尺蠖采自安徽省滁州市三界镇, 于室内饲养, 光周期设为白天 14 h/黑暗 10 h, 相对湿度为 70%。测定了金银花尺蠖幼虫、蛹、雌蛾和雄蛾在不同温度(16、19、22、25、28、31 和 34 ℃)下乳酸脱氢酶、过氧化物酶、羧酸酯酶和酸性磷酸酶的活性。

【结果】不同温度下金银花尺蠖幼虫、蛹、雌蛾和雄蛾体内的 4 种酶活性均存在差异, 在 16~34 ℃, 4 种酶活性均随着温度的升高表现为先上升后下降的趋势。幼虫、蛹、雌蛾和雄蛾体内的乳酸脱氢酶活性在 22 ℃最高, 分别为 17.93、15.25、19.63 和 18.81 $\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$; 过氧化物酶活性在 25 ℃最高, 分别为 34.63、31.83、37.19 和 36.87 $\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$; 羧酸酯酶活性在 28 ℃最高, 分别为 26.78、23.36、29.44 和 28.32 $\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$; 酸性磷酸酶活性在 25 ℃最高, 分别为 13.82、11.37、15.43 和 14.38 $\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。根据回归模型, 得出金银花尺蠖幼虫、蛹、雌蛾和雄蛾的乳酸脱氢酶活性最高的最适温度分别为 21.45、21.44、22.32 和 21.56 ℃, 过氧化物酶活性最高的最适温度分别为 26.16、25.94、25.67 和 25.54 ℃, 羧酸酯酶活性最高的最适温度分别为 29.20、29.65、28.93 和 28.92 ℃, 酸性磷酸酶活性最高的最适温度分别为 25.05、26.39、24.86 和 25.24 ℃。方差分析表明: 温度和虫态的交互作用对金银花尺蠖 4 种酶活性没有显著影响。【结论】温度能影响金银花尺蠖幼虫、蛹、雌蛾和雄蛾体内乳酸脱氢酶、过氧化物酶、羧酸酯酶和酸性磷酸酶的活性。图 4 参 26

关键词: 金银花尺蠖; 温度; 酶活性

中图分类号: Q969.93 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2025)03-0554-10

Effect of temperature on the activity of 4 enzymes in *Heterolocha jinyinhuaphaga*

XIANG Yuyong, ZHANG Yan, TAO Cuiling

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

Abstract: [Objective] The objective is to investigate the effect of temperature on enzyme activity in *Heterolocha jinyinhuaphaga*. [Method] The experimental insects were collected from Sanjie Town, Chuzhou City in Anhui Province and reared in a laboratory. The photoperiod was 14 h of daylight and 10 h of darkness, and the relative humidity was 70%. The activity of lactate dehydrogenase (LDH), peroxidase (POD), carboxylesterase (CarE) and acid phosphate (ACP) was measured in larvae, pupae, female and male moths of *H. jinyinhuaphaga* at different temperatures (16, 19, 22, 25, 28, 31, and 34 ℃). [Result] There were differences in the activity of 4 enzymes in larvae, pupae, female and male moths of *H. jinyinhuaphaga* at different temperatures. At 16~34 ℃, the activity of the 4 enzymes increased first, and then decreased with increasing temperature. LDH activity in larvae, pupae, female, and male moths was the highest at 22 ℃ (17.93, 15.25, 19.63, and 18.81 $\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, respectively), POD activity was the highest at 25 ℃ (34.63, 31.83, 37.19,

收稿日期: 2024-08-02; 修回日期: 2024-10-03

基金项目: 安徽省高校学科(专业)拔尖人才学术资助项目(gxbjZD2020089)

作者简介: 向玉勇 (ORCID: 0000-0001-9335-2256), 教授, 博士, 从事害虫防治研究。E-mail: xyy10657@sohu.com

and 36.87 mmol·g⁻¹·min⁻¹, respectively), CarE activity was the highest at 28 °C (26.78, 23.36, 29.44, and 28.32 mmol·g⁻¹·min⁻¹, respectively), ACP activity was the highest at 25 °C (13.82, 11.37, 15.43, and 14.38 mmol·g⁻¹·min⁻¹, respectively). According to the established regression model, the optimal temperatures for the highest LDH activity in larvae, pupae, female, and male moths were found to be 21.45, 21.44, 22.32 and 21.56 °C, respectively, the optimal temperatures for the highest POD activity were 26.16, 25.94, 25.67 and 25.54 °C, respectively, the optimal temperatures for the highest CarE activity were 29.20, 29.65, 28.93 and 28.92 °C, respectively, the optimal temperatures for the highest ACP activity were 25.05, 26.39, 24.86 and 25.24 °C, respectively. Two-way ANOVA showed that the interaction between temperature and insect stage had no significant effect on the activity of 4 enzymes. [Conclusion] Temperature can affect the activity of LDH, POD, CarE and ACP in larvae, pupae, female and male moths of *H. jinyinhuaphaga*. [Ch, 4 fig. 26 ref.]

Key words: *Heterolocha jinyinhuaphaga*; temperature; enzyme activity

昆虫在生长发育过程中，体内许多酶发挥着重要作用，如昆虫中肠上皮细胞能形成和分泌消化酶，将食物中的糖类、蛋白质和脂肪等营养物质消化分解成小分子物质供生长发育需要^[1-3]。乳酸脱氢酶(LDH)是参与糖酵解的重要酶类，可将丙酮酸催化成乳酸并释放腺嘌呤核苷三磷酸(ATP)，从而完成葡萄糖的酵解过程。丙酮酸激酶(PK)可调节细胞中腺嘌呤核苷三磷酸、腺嘌呤核苷二磷酸(ADP)和糖酵解的中间产物，对糖酵解速率的控制起关键作用^[4]。超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)是昆虫体内重要的保护酶，SOD能够清除超氧阴离子自由基(O₂⁻)，形成过氧化氢(H₂O₂)，而过氧化物酶、过氧化氢酶又具有分解H₂O₂的作用。在这3种酶的共同作用下，细胞内的自由基维持较低水平，保护昆虫不受伤害^[5-6]。羧酸酯酶(CarE)、酸性磷酸酶(ACP)、谷胱甘肽-S-转移酶(GSTs)是昆虫体内重要的解毒酶，能分解代谢农药、植物次生代谢产物等外源毒物，维持昆虫正常生理生化活动^[7-9]。

昆虫是变温动物，温度的变化能直接影响其体内酶的活性^[10]，如在不同温度处理下，桃小食心虫 *Carposina niponensis* 体内超氧化物歧化酶活性差异均达到显著水平，在22 °C时活性最低，28 °C时活性达最高，34 °C时活性急剧下降。过氧化物酶和过氧化氢酶活性均低于超氧化物歧化酶活性，整体呈先上升后下降趋势，在28 °C时活性最高^[11]。经过34、36、38 °C高温处理后，褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 若虫体内过氧化氢酶活性有随温度升高而升高的趋势，但以36 °C处理影响最大，高于36 °C则过氧化氢酶活性受抑制；若虫体内超氧化物歧化酶活性明显高于对照，超氧化物歧化酶活性随温度升高而缓慢上升^[12]。酶活性的高低决定了昆虫生理代谢能力的强弱，从而对昆虫发生数量和消长动态产生重要影响^[13-15]。研究环境温度对昆虫酶活性的影响，可以为深入探讨昆虫与环境适应性的生理生化机制提供参考。

金银花尺蠖 *Heterolocha 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，受害严重的地块金银花叶片被全部吃光，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^[16-20]。笔者在前期研究了温度对金银花尺蠖幼虫消化酶活性的影响^[21]，在此基础上研究温度对金银花尺蠖幼虫、蛹、雌蛾、雄蛾体内乳酸脱氢酶、过氧化物酶、羧酸酯酶、酸性磷酸酶活性的影响，分析金银花尺蠖幼虫、蛹、雌蛾、雄蛾对不同环境温度的生理生化适应性，为深入研究金银花尺蠖对环境适应性的生理生化机制提供科学依据。

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，在人工气候箱(RXZ-288A型)中用新鲜的金银花叶片饲养。人工气候箱的光周期设置为白天14 h/黑暗10 h，温度设置为(25±1) °C，相对湿度设置为70%±7%。

1.2 方法

1.2.1 温度对金银花尺蠖酶活性的影响 前期研究表明：25 ℃左右是金银花尺蠖取食的最适温度^[22]。试验设16、19、22、25、28、31、34 ℃等7个恒温处理，光照周期设置为白天14 h/黑暗10 h，相对湿度设置为70%。取刚孵化第1天的金银花尺蠖幼虫，单头放在各个罐头瓶中，并放入新鲜金银花叶片(用湿棉花包裹叶片基部以保持叶片新鲜，待叶片不新鲜时更换叶片)，用纱布罩住瓶口并用橡皮筋扎紧，定期观察，记载各虫态出现的时间，一直饲养到成虫阶段。成虫羽化后，喂质量分数为10%的蔗糖水。每个温度下1次饲养50头幼虫，试验重复6次。

1.2.2 酶液制备 每处理挑取大小一致的金银花尺蠖5龄幼虫、蛹(化蛹7 d)、雌蛾(羽化3 d)、雄蛾(羽化3 d)各10头，雌蛾、雄蛾剪去翅膀及附肢。用去离子水将虫体洗干净，滤纸擦干，冰浴中加入预冷的磷酸盐缓冲液(PBS)5 mL，迅速研磨成匀浆，离心15 min(-4 ℃, 12 000 r·min⁻¹)，取上清液作酶液。制备乳酸脱氢酶、过氧化物酶、羧酸酯酶、酸性磷酸酶所用的磷酸盐缓冲液浓度分别为0.1 mmol·L⁻¹、0.2 mmol·L⁻¹、0.1 mol·L⁻¹、0.1 mol·L⁻¹，pH分别为7.5、7.0、7.6、7.0。以牛血清蛋白(BSA)为标准蛋白，采用考马斯亮蓝G-250染色法测定样品中酶蛋白质量。

1.2.3 乳酸脱氢酶活性测定 采用紫外分光光度法测定乳酸脱氢酶活性。在代谢中磷酸烯醇式丙酮酸和腺嘌呤核苷二磷酸生成腺嘌呤核苷三磷酸和丙酮酸，乳酸脱氢酶进一步催化还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)、丙酮酸生成乳酸和烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺)^[23]。由于还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸在340 nm处有最大吸收峰值，添加一定量的酶液，观察还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸反应过程中340 nm处吸光度[D(340)]减少量，下降越多表明乳酸脱氢酶的活性越高。因此，将乳酸脱氢酶与丙酮酸以及还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸反应后，测340 nm处的吸光度变化，便可得到该酶的酶活性。在25 ℃，pH 7.5条件下，以1 min吸光度降低值[ΔD(340)]为1的酶量为1个酶活性单位。通过定量测定酶蛋白质量计算酶活性，酶活性单位为mmol·g⁻¹·min⁻¹。

将丙酮酸溶液(2.5 mg丙酮酸用29 mL磷酸盐缓冲液溶解)和还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸液(3.5 mg纯还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸用1 mL磷酸盐缓冲液溶解)放在25 ℃水浴锅中进行预热。取1只比色皿，加入3 mL磷酸盐缓冲液(0.1 mol·L⁻¹，pH 7.5)，置于分光光度计中作对照；另取1只比色皿，加入2.9 mL丙酮酸溶液和0.1 mL还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸溶液，混匀后测吸光度，再迅速加入稀释20倍的酶液10 μL，开始计时，每30 s记录1次数据，持续测定3 min。用吸光度对时间制作线性反应图，计算1 min吸光度降低值(ΔD(340))。每个处理重复6次，根据公式计算乳酸脱氢酶活性：乳酸脱氢酶活性={[(ΔD(340)×稀释倍数)/[加入的酶量×10⁻³]}, 酶活性单位为mmol·g⁻¹·min⁻¹。

1.2.4 过氧化物酶活性测定 采用愈创木酚比色法测定过氧化物酶活性^[9]。在试管中加入1 mL磷酸盐缓冲液(0.2 mmol·L⁻¹，pH 7.0)，1 mL过氧化氢(H₂O₂，质量分数为30%)，0.9 mL愈创木酚(30 mmol·L⁻¹)和0.1 mL酶溶液，让混合物反应5 min后，在470 nm波长下测定吸光度[D(470)]。对照组加入等量的蒸馏水代替酶溶液。每个处理重复6次。将1 mg酶引起的每分钟D(470)变化定义为1个酶活性单位。过氧化物酶活性按以下公式计算：过氧化物酶活性=ΔD(470)/[t×W×(V₀/V)]。其中：ΔD(470)是吸光度随反应时间的变化，t是反应时间(min)，V是酶溶液体积(mL)，V₀是反应混合物体积(mL)，W是酶溶液中的蛋白质质量浓度(g·L⁻¹)，酶活性单位为mmol·g⁻¹·min⁻¹。

1.2.5 羧酸酯酶活性测定 采用紫外分光光度法测定羧酸酯酶活性^[24]。将10 μL酶液、400 μLα-乙酸萘酯(300 μmol·L⁻¹)、30 μL毒扁豆碱(10 μmol·L⁻¹)和560 μL磷酸盐缓冲液(0.1 mol·L⁻¹，pH 7.6)置于试管中。用振荡器振荡(30 ℃)30 min后，在反应混合物中加入100 μL显色剂(质量分数为1%的固蓝B盐：质量分数为5%的十二烷基硫酸钠溶液=2:5)以终止反应。15 min后在600 nm波长下测定反应混合物的吸光度[D(600)]。建立α-萘酚的标准曲线，用于计算产量。每分钟1 mg酶催化1 μmol的产物被定义为1个酶活性单位。对照组加入等量的蒸馏水代替酶溶液。每个处理重复6次。羧酸酯酶活性按照以下公式计算：羧酸酯酶活性=P/[t×W×(V₀/V)]^[24]，其中：P为产物量(μmol)，t为反应时间(min)，V为酶溶液体积(mL)，V₀为反应混合物体积(mL)，W为酶溶液中蛋白质质量浓度(g·L⁻¹)，酶活性单位为mmol·g⁻¹·min⁻¹。

1.2.6 酸性磷酸酶活性测定 用50 μL酶液测定酸性磷酸酶活性。方法按试剂盒说明书(苏州康明生物技术有限公司)。酶活性单位定义为:在37 °C下,每分钟1 mg蛋白质催化1 μmol苯酚生成的产物。酶活性单位为 $\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。每个处理重复6次。

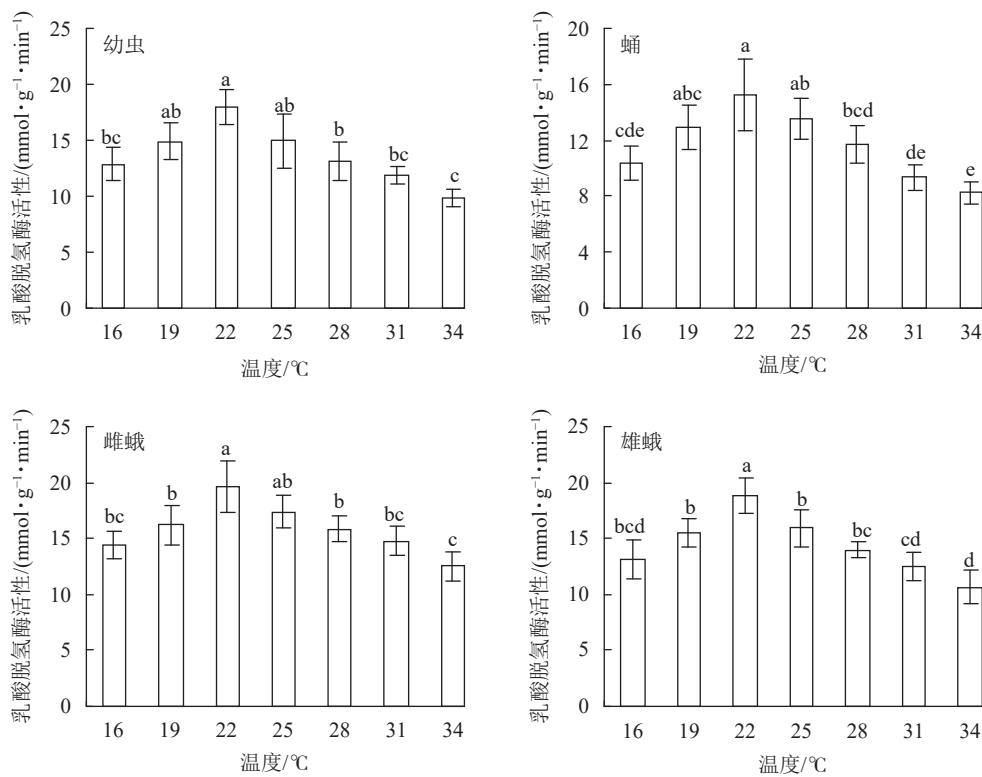
1.3 数据统计

采用SPSS 23软件进行方差分析,采用Duncan氏新复极差法在0.05水平上进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 温度对金银花尺蠖乳酸脱氢酶活性的影响

不同温度下金银花尺蠖幼虫、蛹、雌蛾和雄蛾的乳酸脱氢酶活性均不相同(图1)。温度为16 °C时乳酸脱氢酶活性分别为12.88、10.37、14.47和13.09 $\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。当温度为16~34 °C时,随着温度的升高,乳酸脱氢酶活性不断上升,在22 °C时最高,分别为17.93、15.25、19.63和18.81 $\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$,比16 °C增加了39.21%、47.06%、35.66%和43.70%。温度进一步升高,乳酸脱氢酶活性则开始下降,34 °C时下降到最低,为9.87、8.26、12.52和10.66 $\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。在幼虫中,除19和25 °C外,22 °C时的乳酸脱氢酶活性与其他温度相比差异显著($F_{6,14}=7.807, P=0.001$);除19和25 °C外,蛹在22 °C时的乳酸脱氢酶活性与其他温度相比差异显著($F_{6,14}=7.96, P=0.001$);除25 °C外,雌蛾在22 °C时的乳酸脱氢酶活性与其他温度相比差异显著($F_{6,14}=6.18, P=0.002$);雄蛾在22 °C时的乳酸脱氢酶活性与其他温度相比差异显著($F_{6,14}=10.338, P<0.001$)。



不同小写字母表示不同温度下酶活性差异显著($P<0.05$)。

图1 金银花尺蠖乳酸脱氢酶活性随温度的变化

Figure 1 Lactate dehydrogenase (LDH) activity changes of *H. jinyinhuaphaga* with temperature

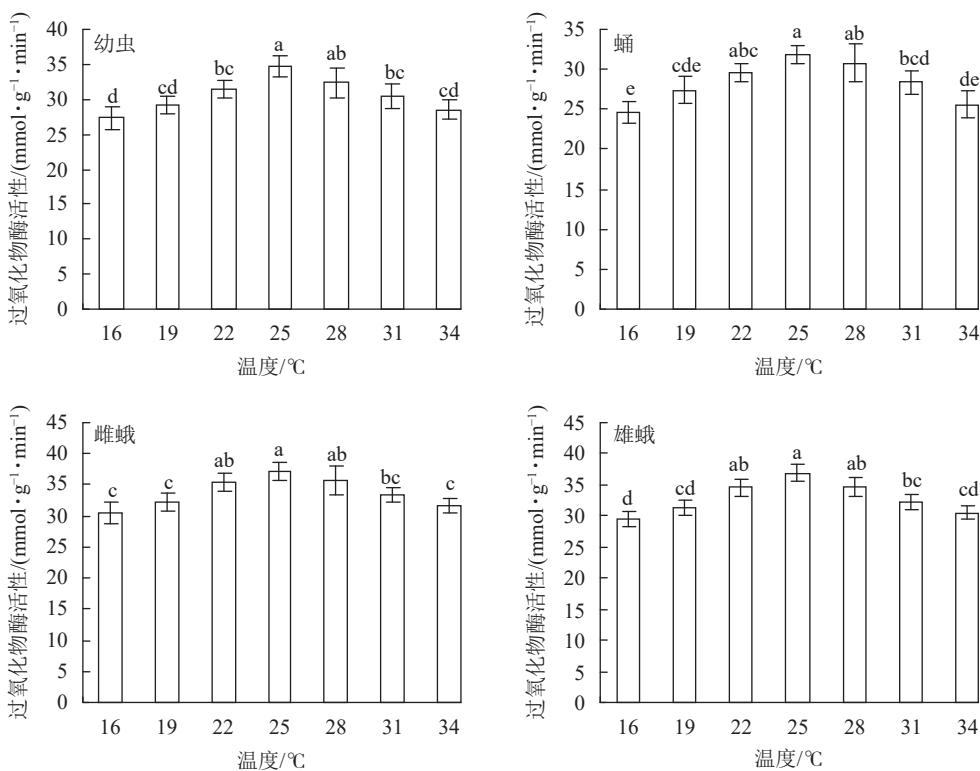
在相同温度下,金银花尺蠖雌蛾的乳酸脱氢酶活性最高,其次是雄蛾,然后是幼虫,蛹最低。16 °C($F_{3,8}=4.128, P=0.048$),19 °C($F_{3,8}=2.256, P=0.039$),22 °C($F_{3,8}=2.537, P=0.032$)和25 °C($F_{3,8}=2.407, P=0.043$)时,雌蛾的乳酸脱氢酶活性与蛹的差异达显著水平,与幼虫和雄蛾差异不显著。28 °C($F_{3,8}=5.286, P=0.027$)和34 °C($F_{3,8}=7.244, P=0.011$)时,雌蛾的乳酸脱氢酶活性与幼虫和蛹差异显著,与雄蛾差异不显著。31 °C时,雌蛾的乳酸脱氢酶活性与幼虫、蛹和雄蛾差异显著($F_{3,8}=12.223, P=0.002$)。

方差分析表明：温度、虫态对金银花尺蠖的乳酸脱氢酶活性均有显著影响 ($P<0.001$)，但温度和虫态的交互作用对金银花尺蠖的乳酸脱氢酶活性没有显著影响。

对不同温度下金银花尺蠖幼虫、蛹、雌蛾和雄蛾的乳酸脱氢酶活性的变化趋势进行回归分析，得出乳酸脱氢酶活性与温度的回归模型分别为： $y_1=0.0049x^3-0.4202x^2+11.2630x-80.0930$ ($R^2=0.9115$)， $y_2=0.0051x^3-0.4412x^2+11.8860x-88.1840$ ($R^2=0.9688$)， $y_3=0.0033x^3-0.3020x^2+8.5500x-58.8980$ ($R^2=0.8842$)， $y_4=0.0056x^3-0.4785x^2+12.8230x-92.8720$ ($R^2=0.9170$)， y_1 、 y_2 、 y_3 、 y_4 分别为金银花尺蠖幼虫、蛹、雌蛾和雄蛾体内乳酸脱氢酶活性， x 为温度。对模型进行计算，得出金银花尺蠖幼虫、蛹、雌蛾和雄蛾的乳酸脱氢酶活性最高的最适温度分别为 21.45、21.44、22.32 和 21.56 ℃。

2.2 温度对金银花尺蠖过氧化物酶活性的影响

不同温度下金银花尺蠖幼虫、蛹、雌蛾和雄蛾的过氧化物酶活性均不相同(图 2)。16 ℃时过氧化物酶活性最低，分别为 27.31、24.62、30.49 和 29.59 mmol·g⁻¹·min⁻¹。温度为 16~34 ℃时，随着温度的升高，过氧化物酶活性呈先上升后下降的趋势，在 25 ℃时最高，分别为 34.63、31.83、37.19 和 36.87 mmol·g⁻¹·min⁻¹，比 16 ℃时增加了 26.80%、29.29%、12.68% 和 24.60%。之后，过氧化物酶活性逐渐下降，34 ℃时下降为 28.53、25.58、31.62 和 30.51 mmol·g⁻¹·min⁻¹。除 28 ℃外，幼虫在 25 ℃时的过氧化物酶活性与其他温度相比差异显著 ($F_{6,14}=7.336$, $P=0.001$)；除 22 和 28 ℃外，蛹 ($F_{6,14}=8.339$, $P=0.001$)，雌蛾 ($F_{6,14}=6.996$, $P=0.001$) 和雄蛾 ($F_{6,14}=12.456$, $P<0.001$) 在 25 ℃时的过氧化物酶活性与其他温度相比差异显著。



不同小写字母表示不同温度下酶活性差异显著 ($P<0.05$)。

图 2 金银花尺蠖过氧化物酶活性随温度的变化

Figure 2 Peroxidase (POD) activity change of *H. jinyinhuaphaga* with temperature

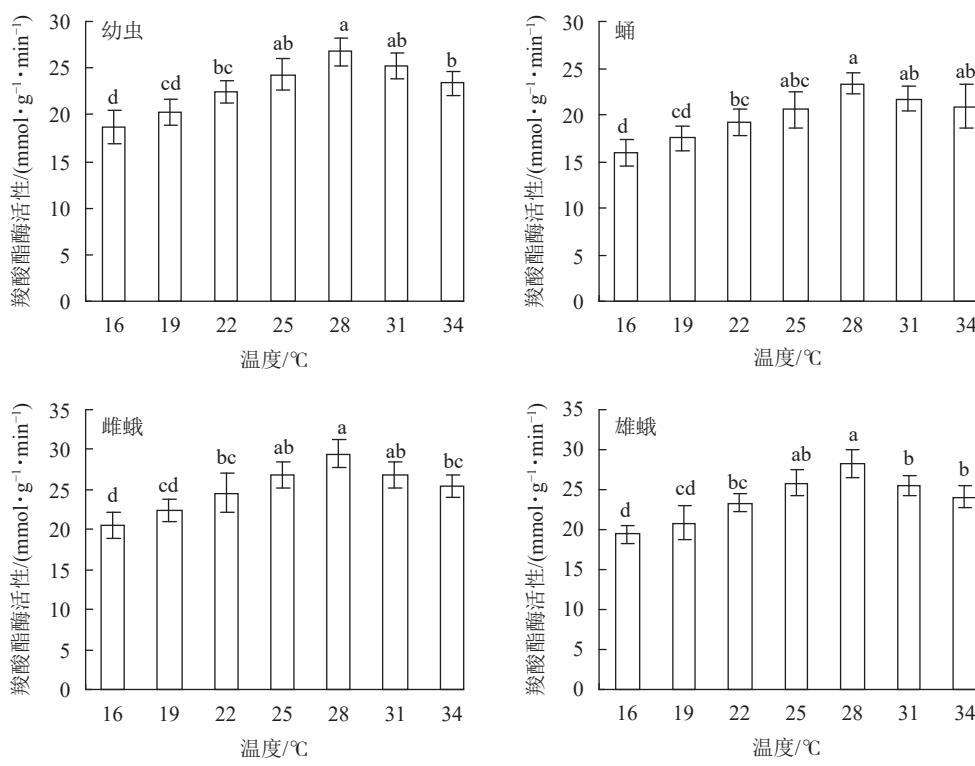
在相同温度下，金银花尺蠖雌蛾的过氧化物酶活性最高，其次是雄蛾，然后是幼虫，蛹最低。16 ℃ ($F_{3,8}=9.392$, $P=0.005$)，19 ℃ ($F_{3,8}=6.914$, $P=0.013$)，22 ℃ ($F_{3,8}=12.877$, $P=0.002$) 和 34 ℃ ($F_{3,8}=11.565$, $P=0.003$) 时，雌蛾的过氧化物酶活性与幼虫和蛹差异达显著水平，与雄蛾差异不显著。25 ℃ ($F_{3,8}=9.962$, $P=0.004$) 和 28 ℃ ($F_{3,8}=3.358$, $P=0.046$) 时，雌蛾的过氧化物酶活性与蛹差异显著，与幼虫和雄蛾差异不显著。31 ℃时，雌蛾的过氧化物酶活性与幼虫和蛹差异显著 ($F_{3,8}=7.301$, $P=0.011$)，与雄蛾差异不显著。

方差分析表明：温度、虫态对金银花尺蠖的过氧化物酶活性均有显著影响($P<0.001$)，但温度和虫态的交互作用对金银花尺蠖的过氧化物酶活性没有显著影响。

对不同温度下金银花尺蠖幼虫、蛹、雌蛾和雄蛾的过氧化物酶活性的变化趋势进行回归分析，得出过氧化物酶活性与温度的回归模型分别为： $y_1=-0.001\ 1x^3+0.018\ 8x^2+1.360\ 7x+5.033\ 1$ ($R^2=0.875\ 1$)， $y_2=-0.001\ 2x^3+0.013\ 5x^2+1.707\ 1x-1.454\ 7$ ($R^2=0.970\ 4$)， $y_3=-0.000\ 3x^3-0.044\ 2x^2+2.901\ 1x-3.728\ 5$ ($R^2=0.917\ 0$)， $y_4=-0.000\ 3x^3-0.049\ 5x^2+3.133\ 4x-7.085\ 0$ ($R^2=0.892\ 0$)， y_1 、 y_2 、 y_3 、 y_4 分别为金银花尺蠖幼虫、蛹、雌蛾和雄蛾体内过氧化物酶活性， x 为温度。对模型进行计算，得出金银花尺蠖幼虫、蛹、雌蛾和雄蛾的过氧化物酶活性最高的最适温度分别为 26.16、25.94、25.67 和 25.54 ℃。

2.3 温度对金银花尺蠖羧酸酯酶活性的影响

不同温度下金银花尺蠖幼虫、蛹、雌蛾和雄蛾羧酸酯酶活性均不相同(图3)。温度为 16℃ 时最低，羧酸酯酶活性分别为 18.64、15.93、20.48 和 19.42 mmol·g⁻¹·min⁻¹。温度为 16~34℃ 时，羧酸酯酶活性呈先上升后下降的趋势，28℃ 时最高，分别为 26.78、23.36、29.44 和 28.32 mmol·g⁻¹·min⁻¹，比 16℃ 增加了 43.67%、46.64%、43.75% 和 45.83%。之后，羧酸酯酶活性开始下降，34℃ 下降为 23.39、20.88、25.37 和 24.11 mmol·g⁻¹·min⁻¹。除 25 和 31℃ 外，幼虫($F_{6,14}=11.407$, $P<0.001$)和雌蛾($F_{6,14}=9.11$, $P<0.001$)在 28℃ 时的羧酸酯酶活性与其他温度相比差异显著；除 25、31 和 34℃ 外，蛹在 28℃ 时的羧酸酯酶活性与其他温度相比差异显著($F_{6,14}=7.397$, $P=0.001$)；除 25℃ 外，雄蛾在 28℃ 时的羧酸酯酶活性与其他温度相比差异显著($F_{6,14}=6.93$, $P<0.001$)。



不同小写字母表示不同温度下酶活性差异显著($P<0.05$)。

图 3 金银花尺蠖羧酸酯酶活性随温度的变化
Figure 3 Carboxylesterase (CarE) activity change of *H. jinyinhuaphaga* with temperature

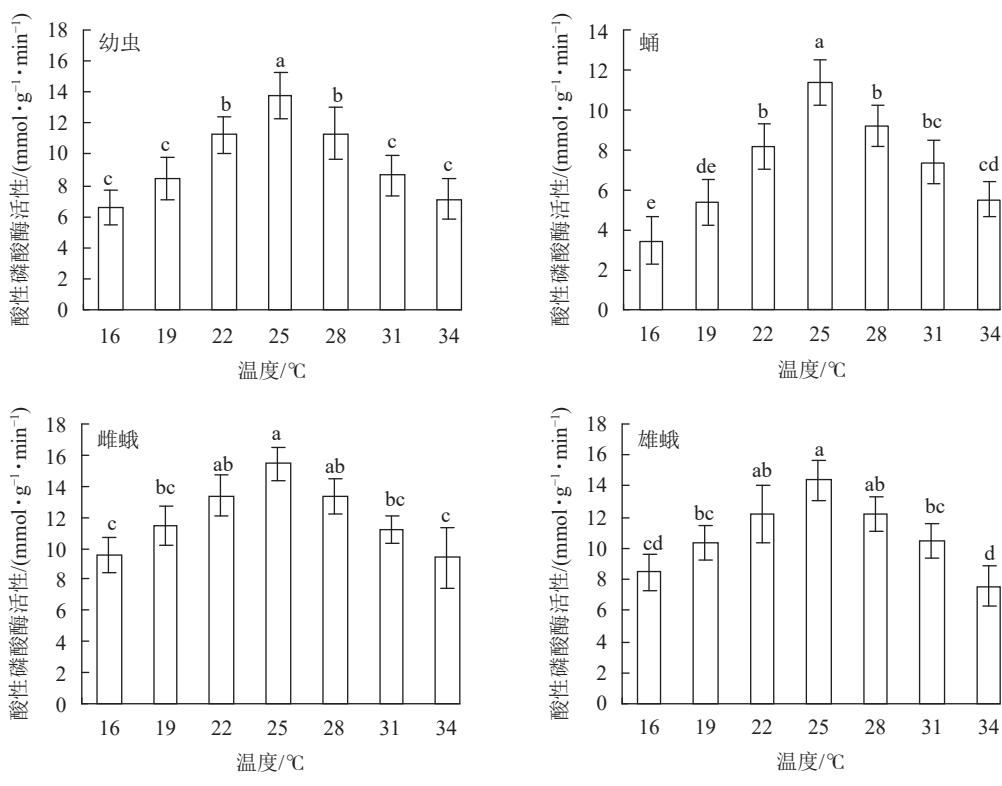
在相同温度下，金银花尺蠖雌蛾的羧酸酯酶活性最高，其次是雄蛾，然后是幼虫，蛹最低。16℃ ($F_{3,8}=4.908$, $P=0.032$)，19℃ ($F_{3,8}=4.713$, $P=0.035$)，22℃ ($F_{3,8}=5.981$, $P=0.019$)，25℃ ($F_{3,8}=7.884$, $P=0.009$)，28℃ ($F_{3,8}=8.581$, $P=0.007$)，31℃ ($F_{3,8}=6.842$, $P=0.013$) 和 34℃ ($F_{3,8}=3.881$, $P=0.046$) 时，雌蛾的羧酸酯酶活性与蛹的差异达显著水平，与幼虫和雄蛾差异不显著。

方差分析表明：温度、虫态对金银花尺蠖的羧酸酯酶活性均有显著影响($P<0.001$)，但温度和虫态的交互作用对金银花尺蠖的羧酸酯酶活性没有显著影响。

对不同温度下金银花尺蠖幼虫、蛹、雌蛾和雄蛾的羧酸酯酶活性的变化趋势进行回归分析,得出羧酸酯酶活性与温度的回归模型分别为: $y_1=-0.1258x^3+1.0962x^2-0.8308x+18.5160$ ($R^2=0.9788$), $y_2=-0.0947x^3+0.8260x^2-0.4172x+15.6460$ ($R^2=0.9535$), $y_3=-0.1258x^3+1.0314x^2-0.3085x+19.8160$ ($R^2=0.9518$), $y_4=-0.1364x^3-1.1519x^2-0.7031x+18.9570$ ($R^2=0.9427$), y_1 、 y_2 、 y_3 、 y_4 分别为金银花尺蠖幼虫、蛹、雌蛾和雄蛾体内羧酸酯酶活性, x 为温度。对模型进行计算,得出金银花尺蠖幼虫、蛹、雌蛾和雄蛾的羧酸酯酶活性最高的最适温度分别为 29.20、29.65、28.93 和 28.92 °C。

2.4 温度对金银花尺蠖酸性磷酸酶活性的影响

不同温度下金银花尺蠖幼虫、蛹、雌蛾和雄蛾的酸性磷酸酶活性均不相同(图 4)。温度为 16 °C 时酸性磷酸酶活性分别为 6.57、3.46、9.56 和 8.45 mmol·g⁻¹·min⁻¹。温度为 16~34 °C 时,酸性磷酸酶活性随着温度的升高呈先上升后下降的趋势,在 25 °C 时最高,分别为 13.82、11.37、15.43 和 14.38 mmol·g⁻¹·min⁻¹,比 16 °C 增加了 110.35%、228.61%、61.40% 和 70.18%。之后,酸性磷酸酶活性开始下降,34 °C 下降为 7.13、5.54、9.39 和 7.57 mmol·g⁻¹·min⁻¹。在幼虫 ($F_{6,14}=11.404$, $P<0.001$) 和蛹 ($F_{6,14}=17.869$, $P<0.001$) 中,25 °C 时的酸性磷酸酶活性与其他温度相比差异显著;除 22 和 28 °C 外,雌蛾 ($F_{6,14}=8.989$, $P<0.001$) 和雄蛾 ($F_{6,14}=9.749$, $P<0.001$) 在 25 °C 时的酸性磷酸酶活性与其他温度相比差异显著。



不同小写字母表示不同温度下酶活性差异显著($P<0.05$)。

图 4 金银花尺蠖酸性磷酸酶活性随温度的变化

Figure 4 ACP activity change of *H. jinyinhuaphaga* with temperature

在相同温度下,金银花尺蠖雌蛾的酸性磷酸酶活性最高,其次是雄蛾,然后是幼虫,蛹最低。16 °C ($F_{3,8}=16.284$, $P=0.001$),19 °C ($F_{3,8}=14.893$, $P=0.001$),28 °C ($F_{3,8}=5.641$, $P=0.023$) 和 31 °C ($F_{3,8}=7.329$, $P=0.011$) 时,雌蛾的酸性磷酸酶活性与幼虫和蛹的差异达显著水平,与雄蛾差异不显著。22 °C ($F_{3,8}=7.668$, $P=0.01$),25 °C ($F_{3,8}=5.7$, $P=0.022$) 和 34 °C ($F_{3,8}=3.815$, $P=0.048$) 时,雌蛾的酸性磷酸酶活性与蛹的差异达显著水平,与幼虫和雄蛾差异不显著。

方差分析表明:温度、虫态对金银花尺蠖的酸性磷酸酶活性均有显著影响($P<0.001$),但温度和虫态的交互作用对金银花尺蠖的酸性磷酸酶活性没有显著影响。

对不同温度下金银花尺蠖幼虫、蛹、雌蛾和雄蛾的酸性磷酸酶活性的变化趋势进行回归分析,得出

酸性磷酸酶活性与温度的回归模型分别为: $y_1=0.0078x^3-0.7438x^2+5.6006x+1.2086$ ($R^2=0.8678$), $y_2=-0.0278x^3-0.2952x^2+4.2947x-0.9414$ ($R^2=0.8881$), $y_3=0.0022x^3-0.5881x^2+4.5475x+5.2929$ ($R^2=0.9096$), $y_4=-0.0264x^3-0.2877x^2+3.6651x+4.8600$ ($R^2=0.9370$), y_1 、 y_2 、 y_3 、 y_4 分别为金银花尺蠖幼虫、蛹、雌蛾和雄蛾体内酸性磷酸酶活性, x 为温度。对模型进行计算, 得出金银花尺蠖幼虫、蛹和雌蛾和雄蛾的酸性磷酸酶活性最高的最适温度分别为 25.05、26.39、24.86 和 25.24 ℃。

3 讨论

温度是影响昆虫生理代谢过程的重要环境因子, 温度的变化能直接影响昆虫体内酶的活性, 从而引起体内一系列生理变化。不同温度下金银花尺蠖幼虫、蛹、雌蛾和雄蛾体内乳酸脱氢酶、过氧化物酶、羧酸酯酶和酸性磷酸酶的活性均不一样, 温度为 16~34 ℃ 时, 这 4 种酶活性均随着温度的升高表现为先上升后下降的趋势。乳酸脱氢酶活性在 22 ℃ 时最高, 34 ℃ 时最低; 过氧化物酶活性在 25 ℃ 时最高, 16 ℃ 最低; 羧酸酯酶活性在 28 ℃ 时最高, 16 ℃ 时最低; 酸性磷酸酶活性在 25 ℃ 时最高, 幼虫和蛹在 16 ℃ 时最低, 雌蛾和雄蛾在 34 ℃ 时最低, 说明这 4 种酶对温度的敏感性不同。其他昆虫也类似, 如中华真地鳖 *Eupolyphaga sinensis* 体内的过氧化物酶活性在 30 ℃ 时最高, 在 34 ℃ 时最低^[25]; 桃小食心虫体内, 过氧化物酶活性在 28 ℃ 时最高, 在 34 ℃ 时最低^[11]。但星豹蛛 *Pardosa astrigera* 雌成蛛、雄成蛛体内过氧化物酶活性在 5 ℃ 时最低, 30 ℃ 以下随温度的升高变化平缓, 且在 20 ℃ 时略有下降, 而在 35 ℃ 时急剧升高, 均达最大值^[26], 表明不同生物体内过氧化物酶活性受温度的影响存在差异。

糖酵解途径是昆虫体内重要的能量代谢途径, 可以产生大量丙酮酸和少量的腺嘌呤核苷三磷酸, 乳酸脱氢酶可催化丙酮酸生成乳酸并释放腺嘌呤核苷三磷酸, 从而完成葡萄糖的酵解过程。25 ℃ 时乳酸脱氢酶活性最高, 说明金银花尺蠖在此温度下糖代谢途径速率高, 有利于生长发育。过氧化物酶是保护酶, 25 ℃ 时过氧化物酶活性最高, 说明金银花尺蠖在此温度下分解 H₂O₂ 的能力强, 保护自身免受氧化伤害。羧酸酯酶和酸性磷酸酶是解毒酶, 28 ℃ 时羧酸酯酶活性最高, 25 ℃ 时酸性磷酸酶活性最高, 说明此时金银花尺蠖解毒能力最强, 能够清除大量的外源毒物。这与金银花尺蠖的生长气候条件相吻合。金银花在春季和夏初季节生长迅速, 尤其在夏季多雨期, 而金银花尺蠖体内这些酶活性恰好在 22~28 ℃ 时最高, 有利于糖代谢的进行和对外源毒物的清除, 加速生长发育, 导致其大发生。在夏末高温天气, 这些酶活性下降, 金银花尺蠖的代谢减弱, 生长发育受阻, 虫口数量下降。到 10 月, 环境温度下降, 低于适宜温度, 这些酶活性又开始下降, 金银花尺蠖的代谢减弱, 开始以蛹越冬。

在同一温度下, 金银花尺蠖雌蛾体内的乳酸脱氢酶、过氧化物酶、羧酸酯酶和酸性磷酸酶活性最高, 蛹体内这 4 种酶活性最低。这可能是雌蛾除了完成生长发育外, 还要承担产卵和繁殖后代的任务, 代谢旺盛, 需要更高的酶活性, 而金银花尺蠖以蛹越冬, 蛹的生存环境相对稳定, 耗能少, 代谢弱, 酶的活性也就最低。

4 结论

测定了金银花尺蠖幼虫、蛹、雌蛾和雄蛾在不同温度下乳酸脱氢酶、过氧化物酶、羧酸酯酶和酸性磷酸酶的活性。结果表明: 温度能影响金银花尺蠖幼虫、蛹、雌蛾和雄蛾体内乳酸脱氢酶、过氧化物酶、羧酸酯酶和酸性磷酸酶的活性。

5 参考文献

- [1] ATHENSTAEDT K, DAUM G. The life cycle of neutral lipids: synthesis, storage and degradation [J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2006, **63**(12): 1355–1369.
- [2] 孔玉萍, 黄青春, 刘曼慧, 等. 黏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 α -amylase in larvae of *Mythimna separata* Walker [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2007, **50**(10): 981–988.
- [3] 姜丽娜, 钱蕾, 喜超, 等. CO₂ 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 Li'na, QIAN Lei, XI Chao, et al. Effects of elevated CO₂ on the digestive enzyme activities in the adults of *Frankliniella occidentalis* and *F. intonsa* (Thysanoptera: Thripidae) on different host plants [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2017, **60**(3): 237–246.
- [4] 何超, 孟泉科, 花蕾. 梨小食心虫滞育过程中几种代谢酶活力的相关变化[J]. 植物保护学报, 2012, **39**(5): 401–405.
- HE Chao, MENG Quanke, HUA Lei. Related changes of activities of several metabolic enzymes in larvae of oriental fruit moth, *Grapholita molesta*, during diapause period [J]. *Acta Phytophylacica Sinica*, 2012, **39**(5): 401–405.
- [5] 郭文娟, 陆驰宇, 熊应强, 等. 转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因水稻对大螟幼虫体内三种保护酶活性的影响[J]. 昆虫学报, 2012, **55**(8): 958–963.
- GUO Wenjuan, LU Chiyu, XIONG Yingqiang, et al. Effects of transgenic *cry1Ab/cry1Ac* rice on the activities of three protective enzymes in larvae of *Sesamia inferens* (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2012, **55**(8): 958–963.
- [6] 刘建业, 钱蕾, 蒋兴川, 等. CO₂ 浓度升高对西花蓟马和花蓟马成虫体内解毒酶和保护酶活性的影响[J]. 昆虫学报, 2014, **57**(7): 754–761.
- LIU Jianye, QIAN Lei, JIANG Xingchuan, et al. Effects of elevated CO₂ concentration on the activities of detoxifying enzymes and protective enzymes in adults of *Frankliniella occidentalis* and *F. intonsa* (Thysanoptera: Thripidae) [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2014, **57**(7): 754–761.
- [7] LINDROTH R L, JUNG S M, FEUKER A M. Chemical ecology of the luna moth: effects of host plant on detoxification enzyme activity [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 1993, **19**: 357–367.
- [8] PISKORSKI R, DORN S. How the oligophage codling moth *Cydia pomonella* survives on walnut despite its secondary metabolite juglone [J]. *Journal of Insect Physiology*, 2011, **57**(6): 744–750.
- [9] 朱香镇, 雒珺瑜, 张帅, 等. 植物源次生物质棉酚和芸香苷对绿盲蝽保护酶与解毒酶活性的影响[J]. 植物保护学报, 2018, **45**(5): 1044–1053.
- ZHU Xiangzhen, LUO Junyu, ZHANG Shuai, et al. Effects of plant secondary metabolites gossypol and rutin on the activities of protective enzymes and detoxification enzymes in green mirid bug *Apolygus lucorum* [J]. *Journal of Plant Protection*, 2018, **45**(5): 1044–1053.
- [10] 李宁, 张世泽, 刘同先. 二氧化碳浓度和温度升高对烟粉虱主要保护酶和解毒酶活性的影响[J]. 植物保护学报, 2016, **43**(1): 99–104.
- LI Ning, ZHANG Shize, LIU Tongxian. Effects of elevated CO₂ concentration and temperature on protective enzymes and detoxification enzymes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) [J]. *Journal of Plant Protection*, 2016, **43**(1): 99–104.
- [11] 邢俊, 李佳睿, 王洪平. 不同温度对桃小食心虫保护酶系活性的影响[J]. 贵州农业科学, 2012, **40**(6): 107–109.
- XING Jun, LI Jiarui, WANG Hongping. Effect of different temperature on the activity of protective enzymes of *Carposina nipponensis* [J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2012, **40**(6): 107–109.
- [12] 冯从经, 戴华国, 武淑文. 褐飞虱高温条件下应激反应及体内保护酶系活性的研究[J]. 应用生态学报, 2001, **12**(3): 409–413.
- FENG Congjing, DAI Huaguo, WU Shuwen. Stress response of *Nilaparvata lugens* at high temperature and activities of its protective enzyme systems [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2001, **12**(3): 409–413.
- [13] KIM D S, LEE J H, YIEM M S. Temperature-dependent development of *Carposina sasakii* (Lepidoptera: Carposinidae) and its stage emergence models [J]. *Environmental Entomology*, 2001, **30**(2): 298–305.
- [14] HODKINSON I D, BIRD J M. Flexible responses of insects to changing environmental temperature-early season development of *Craspedolepta* species on fireweed [J]. *Global Change Biology*, 2006, **12**(7): 1308–1314.
- [15] NETHERER S, SCHOPF A. Potential effects of climate change on insect herbivores in European forests-general aspects and the pine processionary moth as specific example [J]. *Forest Ecology and Management*, 2010, **259**(4): 831–838.
- [16] 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, ZHANG Bolin. Biology characteristic of *Heterolocha jinyinhuaphaga* Chu and the control methods [J]. *Shandong Forestry Science and Technology*, 2005(1): 62–63.
- [17] 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. Occurring laws of *Heterolocha jinyinhuaphaga* Chu and the control

- methods [J]. *China Plant Protection*, 2005, **25**(3): 22–23.
- [18] 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]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2006(12): 78–79.
- [19] 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]. *Meteorological and Environmental Sciences*, 2007, **30**(4): 60–62.
- [20] 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]. *Journal of Chuzhou University*, 2010, **12**(5): 35–37.
- [21] 向玉勇, 孙星, 殷培峰. 寄主植物、温度对金银花尺蠖幼虫消化酶活性的影响[J]. 浙江农林大学学报, 2020, **37**(2): 311–318.
XIANG Yuyong, SU Xin, YIN Peifeng. Effects of host plants and temperatures on digestive enzyme activities in *Heterolocha jinyinhuaphaga* larvae [J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2020, **37**(2): 311–318.
- [22] 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]. *Journal of Environmental Entomology*, 2015, **37**(6): 1158–1162.
- [23] 李东坡, 韩岚岚, 张旭霞, 等. 大豆食心虫滞育期间体内代谢酶对温度诱导的响应[J]. 大豆科学, 2018, **37**(3): 415–423.
LI Dongpo, HAN Lanlan, ZHANG Xuxia, et al. Metabolic response of the soybean pod borer (*Leguminirora glycinioorella*) during diapause to temperature [J]. *Soybean Science*, 2018, **37**(3): 415–423.
- [24] 刘玉坤, 王渭霞, 傅强, 等. 寄主植物对3种稻飞虱解毒酶和保护酶活性的影响[J]. 中国水稻科学, 2011, **25**(6): 659–666.
LIU Yukun, WANG Weixia, FU Qiang, et al. Effects of host plants on activities of detoxification and protective enzymes in three rice plant hoppers [J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2011, **25**(6): 659–666.
- [25] 王彦阳, 梁广文. 温度对中华真地鳌生长发育及酶保护活性的影响[J]. 环境昆虫学报, 2017, **39**(2): 679–686.
WANG Yanyang, LIANG Guangwen. Effects of temperature on the growth, development and protective enzyme activity of *Eupolyphaga sinensis* Walker (Blattaria: Polyphagidae) [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2017, **39**(2): 679–686.
- [26] 马敏, 张宾, 李生才. 温度对星豹蛛保护酶系影响的研究[J]. 化学与生物工程, 2011, **28**(1): 59–61.
MA Min, ZHANG Bin, LI Shengcui. Effect of temperature on protection enzymes of *Pardosa astrigera* [J]. *Chemistry and Bioengineering*, 2011, **28**(1): 59–61.