

# 白屈菜乙醇提取液对菜青虫体内保护酶活性的影响

刘丽华,关磊,王双

(通化师范学院 生物系,吉林 通化 134002)

**摘要:**为利用白屈菜开发新型的植物源农药,采用分光光度法测定了白屈菜乙醇提取液对菜青虫体内保护酶活性的变化。结果表明:用白屈菜乙醇提取液处理菜青虫后,其体内 SOD、CAT 和 POD 活性都呈现先升高后降低的趋势,其中 SOD 酶活力在 16 h 达到最大,而 CAT、POD 都在 24 h 达到高峰,说明菜青虫在抵抗逆境胁迫过程中,SOD 是首先发生作用的保护酶,CAT 和 POD 是继 SOD 之后发生作用的酶系。处理 36 h 前,3 种保护酶处理组均高于对照组,48 h 后,均低于对照组。说明,白屈菜乙醇提取液能有效干扰昆虫保护酶系,扰乱其正常的生理代谢,从而起到防治效果。

**关键词:**白屈菜;菜青虫;保护酶

中图分类号:S462.3 文献标识码:A 文章编号:1002-2767(2015)01-0063-03 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2015.01.0063

由于化学农药引起的抗药性、农药残留等问题,人们越来越倾向于开发天然资源物质,创制新型、高效、低毒杀虫剂。特别是利用天然植物活性成分做杀虫剂更是引人注目。白屈菜属于罂粟科白屈菜属植物,是我国的一种传统中药,具有镇痛、止咳、利尿和解毒等多种功效,在我国大部分省区均有分布。目前,对白屈菜的研究主要是对其药用价值的开发和利用,对其进行杀虫的研究鲜有报道,陈多娇<sup>[1]</sup>及张宏浩<sup>[2]</sup>等对白屈菜的杀虫活性进行了报道,而对昆虫生理生化活性变化的研究鲜见报道。

研究表明,昆虫与其它生物一样,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)和过氧化物酶(peroxidase, POD)和过氧化氢酶(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<sup>[3-5]</sup>。

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,当前对其防治都以化学农药为主,生态环境遭到严重破坏。因此,利用天然植物活性成分做杀虫剂成为一条可行的防治途径。但目前利用白屈菜防治农田害虫及相关机理的研究还很少。因此,本研究以菜青虫为供试靶虫,测定白屈菜乙醇提取液对菜青虫体内保护酶的变化,以期为进一步研究利用白屈菜开发新型的植物源农药提供理论依据和应用基础。

## Effect of Gibberellin on Growth and Development of Yintuo *Cymbidium sinense*

WANG Yan, ZHOU Rong, REN Ji-jun, OUYANG Hua, PANG Jia-wen, HE Chu-xin

(Department of Ornamental, Foshan University, Foshan, Guangdong 528231)

**Abstract:** In order to provide practical technology for Yintuo *Cymbidium sinense*, the effect of spraying different GA concentrations on growth and flowering of *Cymbidium sinense* Yintuo was studied. The results showed that GA could advance the flower period, and 200 mg·L<sup>-1</sup> GA showed the best effect. Additionally, GA could increase the leaves length and the squid length, the chlorophyll content, POD and CAT activity, 150 and 200 mg·L<sup>-1</sup> GA exhibited the best effect.

**Keywords:** gibberellin; *Cymbidium sinense*; growth and development

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试植物为白屈菜,采自通化师范学院后山坡。供试昆虫为菜青虫成虫,采自通化师范学院生物系植物园,在实验室饲养,使其产卵于白菜苗上,选择生长状态良好、整齐一致的4龄幼虫进行试验。

### 1.2 方法

该试验于2013年6月于通化师范学院实验室内进行。

**1.2.1 药液制备** 称取新鲜的白屈菜全草10 g,放入研钵中捣成泥状,加入100 mL 95%乙醇溶液,于37℃恒温振荡12 h,然后过滤粗提液,用旋转蒸发仪浓缩至膏状,加入少量95%乙醇溶液溶解后以蒸馏水定容,制备成质量浓度为 $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 备用。

**1.2.2 试虫处理** 供试菜青虫饲养至4龄,将新鲜嫩白菜叶分别浸泡于质量浓度为 $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 白屈菜乙醇粗提液中(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测定一次POD、SOD和CAT活性。每处理10头幼虫,重复3次。

**1.2.3 保护酶活性测定方法** 酶液制备:将预先处理好的试虫置于预冷的研钵中,加入PBS( $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  pH7.0)缓冲液和少许石英砂,在冰浴下研磨成匀浆,4℃离心 $10\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ,10 min,上清液即为酶液,贮于4℃下备用。

SOD酶活性的测定采用氮蓝四唑光化学还原法<sup>[6]</sup>; POD酶活性测定采用Bestwick等的愈创木酚法<sup>[7]</sup>; CAT酶活性测定采用Chance等方法<sup>[8]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 菜青虫体内SOD酶活性变化

由图1可以看出,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16 h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,低于对照组。这可能是清除由免疫反应产生的大量自由基的需要而使在处理初期SOD酶活性升高,而在处理后期,SOD酶的合成能力受到抑制,使自身的防御能力开始下降,表现为SOD酶活性总体下降的趋势。

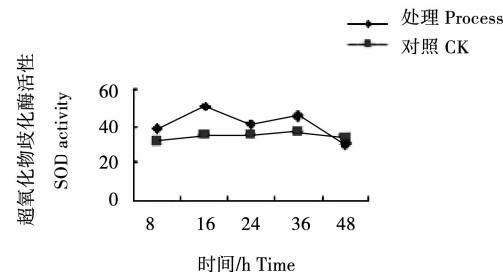


图1 白屈菜乙醇提取液处理后菜青虫体内超氧化物歧化酶活性变化

Fig. 1 SOD activity of *Pieris rapae* after ethanol extract of *Chelidonium majus*

### 2.2 菜青虫体内POD酶活性变化

由图2可以看出,处理组POD酶活性呈现先上升后下降的趋势,在24 h达到最大值,但在36 h前仍高于对照,至48 h,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。

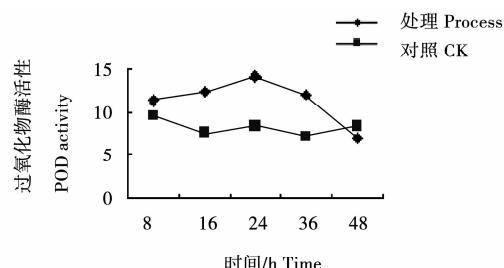


图2 白屈菜乙醇提取液处理后菜青虫体内过氧化物酶的活性变化

Fig. 2 POD activity of *Pieris rapae* after ethanol extract of *Chelidonium majus*

### 2.3 菜青虫体内CAT酶活性变化

由图3可以看出,处理组CAT酶活性呈现先上升后下降的趋势,在24 h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,低于对照组。推测处理初期,其机

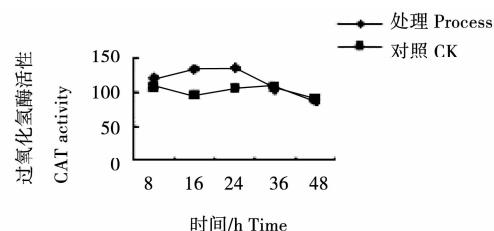


图3 白屈菜乙醇提取液处理后菜青虫体内过氧化氢酶的活性变化

Fig. 3 CAT activity of *Pieris rapae* after ethanol extract of *Chelidonium majus*

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。

### 3 结论与讨论

昆虫在受到杀虫剂、病原菌及极端温度等逆境条件胁迫时, 会扰乱其正常活性氧平衡系统, 造成活性氧积累, 自由基浓度升高, 虫体受到伤害。而昆虫的保护酶系统在消除昆虫体内过量的氧自由基方面起重要作用<sup>[9-12]</sup>。体内超氧自由基( $O_2^-$ )的增加可以诱导 SOD 活性, 从而催化  $O_2^-$ 发生歧化反应, 生成对机体产生毒害作用的  $H_2O_2$ 。而  $H_2O_2$  又可在 POD 和 CAT 催化下被清除, 3 种酶在生物体内相互协同形成防御系统。

本研究发现, 当用白屈菜乙醇粗提液处理后, 虫体中 SOD、POD 和 CAT 活力均高于正常虫体活力, 这与李周直<sup>[4]</sup>等用溴氰菊酯及张奎花<sup>[13]</sup>、姬国红<sup>[14]</sup>等报道的用昆虫病原线虫处理菜青虫的研究结果相同。表明白屈菜也能有效干扰菜青虫体内保护酶的活性, 机体本身通过提高保护酶活性, 以适应外界毒害的影响。而在处理后期, 这些保护酶活力均减小, 且低于对照。表明虫体内自由基的产生与清除之间的平衡被破坏, 虫体自身的防御能力下降。

本研究用白屈菜乙醇提取液处理菜青虫, 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一定意义, 为探明白屈菜处理后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于深入

研究。

### 参考文献:

- [1] 陈多娇, 谭大海, 高雪, 等. 白屈菜乙醇提取物理化性质及驱虫性研究[J]. 北方园艺, 2010(10): 52-54.
- [2] 张宏浩. 白屈菜活性物质提取工艺及杀虫活性的研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2007.
- [3] 张仙红, 王宏民, 李文英, 等. 菜青虫感染攻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.
- [4] 李周直, 沈惠娟, 蒋巧根, 等. 几种昆虫体内保护酶系统活力的研究[J]. 昆虫学报, 1994, 4(37): 399-403.
- [5] 刘奇志, 曹海锋, 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.
- [6] Perry C A, Dwyer J, Gouris R R, Health effects salicylates in food and drug[J]. Nutrient Rev, 1996, 54(8): 225-240.
- [7] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 3 版. 北京: 高等教育出版社, 2003.
- [8] Chance B, Maehly A C. Assay of catalases and peroxidases[J]. Methods Enzymol, 1955, 11(2): 764-775.
- [9] 朱建兰, 王国利, 刘谨, 等. 四脊裸胞壳 Dh 菌株侵染对钩麦蛾幼虫体内保护酶的影响[J]. 草地学报, 2008, 16(2): 121-125.
- [10] 王楠, 张志春, 王满国, 等. 腐胺对小菜蛾幼虫生长及保护酶活力的影响[J]. 昆虫知识, 2008, 45(4): 573-576.
- [11] 陈常理, 韦茂兔, 李明江, 等. 温度对 B 型烟粉虱存活率和保护酶系的影响[J]. 浙江农业科学, 2010(4): 853-857.
- [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] 张奎花, 钱秀娟, 姬国红, 等. 异小杆线虫对菜青虫体内保护酶活力的影响[J]. 甘肃农业大学学报, 2012, 2(47): 58-61.
- [14] 姬国红, 钱秀娟, 刘长仲, 等. 夜蛾斯氏线虫对菜青虫几种保护酶活力的影响[J]. 植物保护, 2009, 35(4): 66-69.

## Effect of Ethanol Extract of *Chelidonium majus* on Protective Enzyme Activity in *Pieris rapae* L.

LIU Li-hua, GUAN Lei, WANG Shuang

(Department of Biology, Tonghua Normal University, Tonghua, Jilin 134000)

**Abstract:** In order to develop new botanical pesticides by *Celandine majus*, Spectrophotometry was used to determine the change of ethanol extract of *Chelidonium majus* on protective enzyme activity of *Pieris rapae* L.. The results showed that the SOD, CAT and POD activity were presented increased and then decreased after ethanol extract treating, which SOD enzyme activity reached maximum for 16 h, CAT and POD reached for 24 h. It indicated that in the process of withstand environmental stress for *Pieris rapae* L., SOD was a protective enzyme which worked first, following with CAT and POD. Before 36 h, three protective enzyme treatments were higher than those in the control, after 48 h, they were lower than the control. The results showed that, ethanol extract of *Chelidonium majus* could effectively interfere insect protection enzymes, disrupt the normal physiological metabolism, so as to achieve to control.

**Keywords:** *Celandine majus*; *Pieris rapae*; protective enzyme