

Zn²⁺ 胁迫对麦长管蚜种群生态遗传学的影响

张 傲, 赵惠燕

(西北农林科技大学 植物保护学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 【目的】研究不同浓度 Zn²⁺ 处理下, 麦长管蚜 *Sitobion avenae* 生态遗传学参数、抗氧化酶活性和蛋白质含量的变化, 为研究种群暴发、综合防治、重金属毒性效应的分子机理及重金属对昆虫种群遗传进化的影响提供理论依据。【方法】用不同浓度 Zn²⁺ (0(对照), 2.5, 5.0, 10.0 mmol/L) 浇灌小麦幼苗, 在其叶片上饲养麦长管蚜及其后代, 制作 F₁、F₂、F₃ 代的特定时间生命表, 分析重金属 Zn²⁺ 对麦长管蚜生态遗传学参数、抗氧化酶活性和体内蛋白质含量的影响。【结果】Zn²⁺ 处理后, 麦长管蚜的世代周期在低浓度(2.5 mmol/L)时较对照延长, 高浓度时(5.0~10.0 mmol/L)则较对照显著缩短; 种群净增殖率、内禀增长率和周限增长率均显著低于对照, 且随 Zn²⁺ 浓度的增加而降低。Zn²⁺ 对麦长管蚜的过氧化氢酶(CAT)活性有抑制作用, 10.0 mmol/L Zn²⁺ 处理后, CAT 活性显著低于对照和 2.5 mmol/L Zn²⁺ 处理; 过氧化物酶(POD)活性在各代麦长管蚜之间存在显著差异; 2.5 mmol/L Zn²⁺ 处理后, 超氧化物歧化酶(SOD)活性较对照显著升高, 而 5.0 和 10.0 mmol/L Zn²⁺ 处理蚜虫后, SOD 活性较对照显著降低; 除 2.5 mmol/L Zn²⁺ 处理的 F₁ 代外, F₁、F₂、F₃ 的羧酸酯酶(CarE)活性均高于对照。Zn²⁺ 处理后, 麦长管蚜体内蛋白质含量明显高于对照, 不同浓度 Zn²⁺ 对蛋白质含量的影响显著; F₁、F₂、F₃ 代麦长管蚜体内的蛋白质含量平均值分别为 37.1, 42.9, 47.9 μg/mg, 且差异显著。【结论】Zn²⁺ 对麦长管蚜的毒害已遗传给后代并在后代中累积, 高浓度 Zn²⁺ 处理的毒害作用比低浓度 Zn²⁺ 处理强。

[关键词] 重金属; 麦长管蚜; 生态遗传学参数; 抗氧化酶; 蛋白质代谢

[中图分类号] S435.122⁺.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2009)11-0131-07

Ecogenetic effects of heavy metals Zn²⁺ on the aphid *Sitobion avenae* (Fabricius)

ZHANG Ao, ZHAO Hui-yan

(College of Plant Protection, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】The effects of Zn²⁺ on aphids and their descendants were analyzed to provide a theoretical basis for integrated management to lay a foundation for further studies on toxigenicity mechanism of heavy metals. 【Method】The aphid *Sitobion avenae* was fed on wheat leaves treated with low and high concentrations of Zn²⁺, time-special life tables of F₁, F₂ and F₃ were made and effects of Zn²⁺ on ecogenetic parameters, enzyme activity and protein level were subsequently measured. 【Result】The development duration was prolonged at low concentrations (2.5 mmol/L) while shortened sharply at higher concentrations (5.0—10.0 mmol/L); the net reproductive rate, the innate capacity of increase and the finite rate of increase of aphids were reduced dramatically. Activity of catalase was inhibited, and was significantly lower than control after treated with 10.0 mmol/L Zn²⁺; activities of peroxidase were of significant difference among generations; activity of superoxide dismutase under 2.5 mmol/L Zn²⁺ was much higher than

* [收稿日期] 2009-02-25

[基金项目] 国家自然科学基金项目(39970112, 30470268)

[作者简介] 张 傲(1985—), 男, 河南邓州人, 在读硕士, 主要从事昆虫生态学及农业害虫防治研究。

E-mail: zhangao1112@163.com

[通信作者] 赵惠燕(1956—), 女, 河南西平人, 教授, 博士生导师, 主要从事昆虫生态遗传、害虫综合治理和作物抗虫性研究。

E-mail: zhaohy1983@yahoo.com.cn

the control, while much lower under 5.0 and 10.0 mmol/L Zn^{2+} , and the differences between treatments were statistically significant; activity of carboxylesterase increased in most cases except F_1 with 2.5 mmol/L Zn^{2+} . Protein synthesis of Zn^{2+} treated aphids was enhanced and protein level increased significantly from control to 10.0 mmol/L Zn^{2+} ; mean protein level from the first to the third generation was 37.1, 42.9 and 47.9 $\mu\text{g}/\text{mg}$ respectively, and significant differences were detected among generations. 【Conclusion】 The detrimental effects of Zn^{2+} on aphids have been inherited to descendants and the toxicity of low concentrations is inferior to that of higher concentrations. The changing pattern of all the ecologic characteristics proves the evident responding process of aphids to a range of concentrations of heavy metals.

Key words: heavy metal; *Sitobion avenae*; ecogenetic parameter; antioxidant enzyme; protein metabolism

随着工业化、城市化的迅速发展和农药的大量使用,重金属污染已经成为一个全球性的环境问题,对生物多样性和人类健康构成了严重威胁^[1]。作为全球生物多样性的的重要组成部分,昆虫因重金属污染而受到的潜在影响同样不可忽视。环境中的重金属可以通过昆虫的呼吸、表皮和摄食等途径进入昆虫体内,也可以通过土壤和作物的吸收在食物链各个环节间转移、积累,对植食性昆虫的生长发育、正常生理生化代谢及遗传发育过程造成破坏。近年来,有关重金属污染对昆虫类群影响的文献逐渐增多,涉及 Cd、Zn、Cu、Pb、Hg、Ni 和 As 等重金属对弹尾目、双翅目、鳞翅目、鞘翅目、膜翅目和半翅目昆虫等的影响^[2]。目前,关于重金属对生物毒性的研究,主要集中在生物机体组织中毒破坏上。朱玉芳等^[3]研究了重金属对家蚕 *Bombyx mori* 茧质的影响,发现添食镉、铅家蚕的全茧量、茧层量、茧层率均低于对照,且随重金属离子浓度的增加,全茧量、茧层量、茧层率均呈下降趋势。吴国星等^[4]研究认为,铜对棕尾别麻蝇 *Boettcherisca peregrine* 幼虫历期、化蛹率、蛹历期、羽化率、性比等有抑制作用。王慧等^[5]分析认为,铜和镉对棕尾别麻蝇体内超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性有明显的抑制作用,且抑制程度因处理浓度的升高而加强。孙虹霞等^[6]研究发现,斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 幼虫羧酸酯酶(CarE)活性表现为低剂量 Ni 胁迫抑制、而高剂量 Ni 胁迫增加的趋势。但目前的研究大多忽略了重金属在昆虫种群增长中的累积毒性效应,对受间接影响的植食性昆虫类群关注不够。有关重金属对麦长管蚜生态遗传学参数、抗氧化酶活性、蛋白质代谢和遗传变异的影响,以及重金属产生毒性效应的分子机理等方面的报道甚少。本研究用不同浓度的 Zn^{2+} 处理小麦幼苗,以其叶片饲养麦长管蚜 *Sitobion avenae* (Fabricius) 及其后代,制作 3 代麦长管蚜的特定时间生命表,分析世代周期(T)、

净增殖率(R_0)、内禀增殖率(R_m)和周限增长率(λ) 在亲代和后代之间的差异,探讨重金属对麦长管蚜生长发育和生理生化过程产生影响的机理,为研究种群暴发及综合防治提供理论依据;测定 SOD、过氧化物酶(POD)、CAT 和 CarE 活性及麦长管蚜体内蛋白质含量的变化,为研究重金属对麦长管蚜抗氧化酶系统和蛋白质代谢的影响及其致毒机理提供依据,并为进一步研究重金属产生毒性效应的分子机理,及其对昆虫种群遗传进化的影响奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材 料

蚜虫为单克隆系麦长管蚜,由西北农林科技大学昆虫生态与有害生物综合治理实验室提供。所用小麦品种为小偃 22,种子购自陕西杨凌农资市场。 $ZnCl_2$ (分析纯) 购自汕头市西陇化学药品厂,用去离子水稀释至 2.5, 5.0, 10.0 mmol/L Zn^{2+} 溶液备用。

1.2 麦长管蚜饲养与处理

用盛满全营养土的塑料盆(直径 15 cm)种植小麦幼苗,使其在人工气候箱(温度 20 $^{\circ}\text{C}$ /18 $^{\circ}\text{C}$,光周期 14 h/10 h,相对湿度 60% $\pm$ 5%)中生长,定期分别以等量的 2.5, 5.0 和 10.0 mmol/L Zn^{2+} 溶液浇灌小麦,以等量蒸馏水处理为对照。待小麦长至 2~3 叶期,于同一天取出生不到 24 h 的麦长管蚜若蚜,接于小麦叶片上,单头单株,每处理 30 头。为防止麦长管蚜逃逸,每头蚜虫均用带有纱网的小笼罩罩在叶片上。每日检查 2 次,绘制麦长管蚜 F_1 、 F_2 、 F_3 代特定时间生命表,用以下公式计算麦长管蚜世代周期(T)、净增殖率(R_0)、内禀增殖率(R_m)和周限增长率(λ): $T = \sum L_x m_x x / \sum L_x m_x$, $R_0 = \sum L_x m_x$, $R_m = \ln R_0 / T$, $\lambda = e^{R_m}$ 。式中: x 为处理天数, L_x 为 x 天时雌虫存活率, m_x 为 x 天时平均每头雌虫产下的后代数^[7]。同时,用经 Zn^{2+} 胁迫处理后的小麦叶片

在培养皿中饲养麦长管蚜,待其生长至成虫时饥饿 1 d,用于酶活性和蛋白质含量的测定。

1.3 酶的提取与活性测定

分别称取对照和各处理麦长管蚜 2 mg,装入 1.5 mL 的 Eppendorf 离心管中,加入 0.5 mL 磷酸缓冲液(PB,50 mmol/L,pH 7.0)和少许石英砂,冰浴充分研磨,于 4 ℃冰箱内放置 10~15 min 后超速冷冻离心机离心(4 ℃、12 000 r/min 离心 10 min),取上清液,装入 0.5 mL 离心管中,-20 ℃保存备用。

CAT 活性测定采用 Liang 等^[8]的方法,一个酶活单位(U)定义为在标准条件下每分钟分解 1 μmol H₂O₂ 所需的酶量;POD 活性测定采用 Cakmak 等^[9]的方法,1U 定义为在标准条件下每分钟内使吸光度下降 0.01 单位所需的酶量;SOD 活性测定采用微量邻苯三酚自氧化法^[10],1U 定义为在标准条件下每分钟抑制邻苯三酚自氧化速率达 50%时所需的酶量;CarE 活性测定采用 Van Asperen^[11]的方法,以 α-萘脂乙酸(α-NA)为底物,1U 定义为标准条件下每分钟内生成 1 μmol α-NA 所需的酶量,使用 Beckman DU 800 紫外/可见光分光光度计进行样品吸光度的测定。每个 Zn²⁺ 浓度处理下酶活性测定 5 个重复,取平均值。

1.4 蛋白质的提取与含量测定

蛋白质提取采用 Sambrook 等^[12]的方法。蛋白质含量测定采用 Bradford^[13]的方法进行,以牛血

清蛋白做标准曲线,每处理 5 次重复,取平均值。

1.5 数据分析

使用 SPSS 12.0 软件进行双因素方差分析,分析处理间的显著差异性。如果有显著差异,采用 LSD 测验区分平均值,显著水平为 0.05。使用 Microsoft Excel 2003 处理软件确定不同 Zn²⁺ 浓度与各个生态遗传学参数之间的相关关系, $r^2 > 0.95$ 代表两者之间显著相关。

2 结果与分析

2.1 Zn²⁺ 对麦长管蚜生态遗传学参数的影响

由表 1 可见,随着 Zn²⁺ 浓度的增加,F₁、F₂ 代麦长管蚜 T 降低,且 Zn²⁺ 浓度与 T 值之间存在显著的相关关系(r^2 分别为 0.965 7 和 0.981 7);F₃ 代麦长管蚜的 T 均低于对照。2.5 mmol/L Zn²⁺ 处理后的 F₁ 和 F₂ 代麦长管蚜、5.0 mmol/L Zn²⁺ 处理后的 F₁ 代麦长管蚜,其 T 较对照延长;而 10.0 mmol/L Zn²⁺ 处理后,各代麦长管蚜 T 较对照显著缩短。统计分析表明,2.5 与 5.0 mmol/L Zn²⁺ 处理麦长管蚜的 T 值无显著差异,但显著高于 10.0 mmol/L Zn²⁺ 处理,表明受较低浓度 Zn²⁺ 处理后,麦长管蚜将延长 T 作为一种应激反应,以牺牲种群增长速度为代价避免更多的个体死亡;而高浓度 Zn²⁺ 胁迫对麦长管蚜的毒害作用过大,使其来不及反应即死亡,导致 T 显著降低,说明高浓度 Zn²⁺ 胁迫对麦长管蚜的毒害作用更强。

表 1 Zn²⁺ 处理后麦长管蚜 T、R₀、R_m 和 λ 的变化

Table 1 Changes of T,R₀,R_m and λ in *S. avenae* with Zn²⁺ treatment

Zn ²⁺ / (mmol · L ⁻¹)	T			R ₀		
	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	F ₃
0	16.888 aX	16.792 aXY	16.273 aY	58.7 aX	56.8 aX	56.1 aX
2.5	19.021 aX	17.833 aXY	15.074 aY	42.6 bX	24.0 bX	11.9 bX
5.0	18.131 aX	15.123 aXY	15.753 aY	18.1 cX	9.1 cX	9.6 cX
10.0	13.378 bX	11.850 bXY	10.640 bY	7.6 cX	2.5 cX	3.1 cX

Zn ²⁺ / (mmol · L ⁻¹)	R _m			λ		
	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	F ₃
0	0.241 aX	0.238 aX	0.237 aX	1.273 aX	1.268 aX	1.259 aX
2.5	0.197 bX	0.178 bX	0.164 bX	1.218 bX	1.195 bX	1.178 bX
5.0	0.160 bX	0.146 bX	0.144 bX	1.173 cX	1.157 cX	1.155 cX
10.0	0.148 cX	0.077 cX	0.107 cX	1.159 dX	1.080 dX	1.113 dX

注:同列数据后标不同小写字母者表示不同浓度 Zn²⁺ 处理之间差异显著,同行数据后标不同大写字母者表示 F₁、F₂ 和 F₃ 代之间差异显著(LSD 测验,显著水平为 0.05)。下表同。

Note:Different lowercase letters following number denote significant differences among concentrations,different capital letters following number denote significant differences among generations,using LSD at α=0.05. The same below.

由表 1 还可见,Zn²⁺ 处理后,每代麦长管蚜的 R₀、R_m 和 λ 均随 Zn²⁺ 浓度的增加而降低,且均显著低于对照,说明 Zn²⁺ 对麦长管蚜的生殖能力和种群

增长起到了抑制作用,使其繁殖潜能和种群增长速度降低。Zn²⁺ 浓度越高,种群受到的抑制作用越明显,10.0 mmol/L Zn²⁺ 处理后,其 R₀、R_m 和 λ 均显

著低于 2.5 和 5.0 mmol/L Zn^{2+} 处理,表明高浓度 Zn^{2+} 对麦长管蚜各个生态遗传学参数的影响大于低浓度 Zn^{2+} 。当 Zn^{2+} 浓度为 0~5.0 mmol/L 时, F_1 的 R_0 和 λ 显著降低,而当 Zn^{2+} 为 5.0~10.0 mmol/L 时, F_1 的 R_0 和 λ 降幅较小;而 F_2 、 F_3 的 R_0 和 λ 随 Zn^{2+} 浓度升高的变化趋势与 F_1 正好相反,表明开始受到胁迫时,低浓度 Zn^{2+} 即可对 F_1 代表麦长管蚜产生强烈影响,而一段时间后,蚜虫对较低浓度的 Zn^{2+} 产生了一定程度的适应,此时高浓度 Zn^{2+} 胁迫能显著降低麦长管蚜的繁殖率和生殖潜能,对其个体生长发育和种群增长产生较大影响。

同一浓度 Zn^{2+} 处理后, F_1 、 F_2 和 F_3 代表麦长管蚜 T 差异显著, F_3 代表麦长管蚜的 T 显著短于 F_1 代(表 1),说明 Zn^{2+} 对麦长管蚜的影响已经遗传到后代,且毒害作用已经开始累积;但 F_1 、 F_2 、 F_3 代表麦长管蚜的 R_0 、 Rm 和 λ 差异不显著,且经过 10.0

mmol/L Zn^{2+} 处理后,与 F_2 代相比, F_3 代表麦长管蚜的 R_0 、 Rm 和 λ 有小幅增长,说明经历 2 代以后,麦长管蚜开始对 Zn^{2+} 胁迫产生的毒害作用有所适应,种群为抵御 Zn^{2+} 毒害而付出的代价开始减少。

2.2 Zn^{2+} 对麦长管蚜抗氧化酶活性的影响

表 2 显示, Zn^{2+} 对 F_1 、 F_2 和 F_3 代表麦长管蚜的 CAT 活性均有抑制作用,且在同一代蚜虫中,抑制程度随 Zn^{2+} 浓度的增加而增强,10.0 mmol/L Zn^{2+} 处理后,CAT 活性显著低于对照和 2.5 mmol/L Zn^{2+} 处理。但经同一浓度 Zn^{2+} 处理后,CAT 活性在 F_1 、 F_2 和 F_3 代之间差异不显著。经 2.5 mmol/L Zn^{2+} 处理后,CAT 活性表现为 $F_3 > F_1 > F_2$;而经 5.0 和 10.0 mmol/L Zn^{2+} 处理后,CAT 活性表现为 $F_1 > F_2 > F_3$,说明高浓度 Zn^{2+} 对麦长管蚜 CAT 活性的影响已经在后代中累积。

表 2 Zn^{2+} 处理后麦长管蚜 CAT 和 POD 活性的变化(平均值±标准误)

Table 2 Activity of CAT and POD in <i>S. avenae</i> with Zn^{2+} treatment (mean ± SD)		U/g					
		CAT			POD		
Zn^{2+} / (mmol · L ⁻¹)		F_1	F_2	F_3	F_1	F_2	F_3
0		2 798±4.64 aX	2 689±3.65 aX	2 615±3.67 aX	615±7.91 aY	630±12.95 aXY	610±3.54 aX
2.5		2 397±49.02 abX	2 114±4.47 abX	2 580±130.40 abX	500±7.45 aY	710±5.43 aXY	1 620±14.74 aX
5.0		2 265±43.95 bcX	2 075±5.24 bcX	1 353±8.31 bcX	340±7.35 aY	1 460±7.71 aXY	1 290±6.40 aX
10.0		1 990±5.34 cX	1 523±4.30 cX	1 376±34.43 cX	360±11.22 aY	440±7.68 aXY	1 020±6.60 aX

由表 2 可见,不同浓度 Zn^{2+} 对麦长管蚜 POD 活性的影响无显著差异(表 2),但 Zn^{2+} 处理后,POD 活性在各代表麦长管蚜之间存在显著差异,且基本上为 $F_3 > F_2 > F_1$,说明随着世代的发展,麦长管蚜种群体内抗氧化保护酶 POD 对 Zn^{2+} 的毒害作用已经有所适应,并开始发挥对生物机体的保护作用。 F_1 代表麦长管蚜 POD 活性均低于对照,说明从 F_1 代开始受到 Zn^{2+} 胁迫毒害;经 2.5 和 5.0 mmol/L Zn^{2+} 处理后, F_2 代表麦长管蚜的 POD 活性高于对照,10.0 mmol/L Zn^{2+} 处理后 F_2 代 POD 活性低于对照, F_3 代蚜虫各浓

度 Zn^{2+} 处理 POD 活性均高于对照,说明 F_2 、 F_3 代表麦长管蚜对 Zn^{2+} 胁迫的毒害已经逐渐适应。

从表 3 可以看出,2.5 mmol/L Zn^{2+} 处理后,麦长管蚜体内 SOD 活性较对照显著升高,可能是由于少量 Zn^{2+} 结合到其活性位点上而造成的;当用 5.0 和 10.0 mmol/L Zn^{2+} 处理后,麦长管蚜体内 SOD 保护系统被严重破坏,酶活性较对照和 2.5 mmol/L Zn^{2+} 处理显著降低,至 F_3 代 SOD 保护系统仍不能起到有效的保护作用。经同一浓度 Zn^{2+} 处理后,SOD 活性在 F_1 、 F_2 和 F_3 代之间差异不显著。

表 3 Zn^{2+} 处理后麦长管蚜 SOD 和 CarE 活性的变化(平均值±标准误)

Table 3 Activity of SOD and CarE in <i>S. avenae</i> with Zn^{2+} treatment (mean ± SD)		U/g					
		SOD			CarE		
Zn^{2+} / (mmol · L ⁻¹)		F_1	F_2	F_3	F_1	F_2	F_3
0		12 423±27.35 bX	12 328±18.65 bX	11 656±11.46 bX	4 683±16.39 aX	4 709±14.88 aX	4 643±9.27 aX
2.5		14 161±16.47 aX	13 847±24.38 aX	14 023±20.81 aX	4 617±10.49 aX	5 983±10.42 aX	6 433±15.60 aX
5.0		7 245±10.82 cX	8 126±19.06 cX	7 452±9.04 cX	5 900±14.54 aX	6 350±7.14 aX	5 467±5.24 aX
10.0		7 075±18.40 cX	6 895±7.56 cX	7 188±12.93 cX	6 200±9.03 aX	6 550±10.30 aX	5 017±8.63 aX

从表 3 还可以看出, Zn^{2+} 处理后,除 2.5 mmol/L Zn^{2+} 处理 F_1 代的 CarE 活性稍低于对照外, F_1 、 F_2 、 F_3 代表麦长管蚜的 CarE 活性均高于对照,但不同浓度 Zn^{2+} 处理后无显著差异,说明在受到 Zn^{2+} 胁迫

后,麦长管蚜很快提高体内 CarE 活性以减少伤害,形成了有效的保护作用。经同一浓度 Zn^{2+} 处理后,CarE 活性在 F_1 、 F_2 和 F_3 代之间差异不显著。 F_1 、 F_2 代表麦长管蚜的 CarE 活性与 Zn^{2+} 浓度之间存在

显著的正相关关系(r^2 分别为 0.963 3 和 0.919 0),即 CarE 活性随 Zn²⁺ 浓度升高而增强。10.0 mmol/L Zn²⁺ 处理后,F₂ 代麦长管蚜的 CarE 活性低于 2.5 和 5.0 mmol/L Zn²⁺ 处理,可能是由于高浓度 Zn²⁺ 在麦长管蚜体内快速积累,导致 CarE 的保护作用有所减弱。

2.3 Zn²⁺ 对麦长管蚜体内蛋白质含量的影响

表 4 显示,Zn²⁺ 处理后,麦长管蚜体内的蛋白质含量均高于对照,表明麦长管蚜的蛋白质合成过程在受到 Zn²⁺ 胁迫后形成明显的应激反应。统计分

析表明,不同浓度 Zn²⁺ 对麦长管蚜体内蛋白质含量有显著影响,5.0 和 10.0 mmol/L Zn²⁺ 处理后蛋白质含量明显高于对照和 2.5 mmol/L Zn²⁺ 处理,说明 Zn²⁺ 浓度越高,蛋白质合成系统的应激反应越强,对麦长管蚜的保护作用越强。Zn²⁺ 处理后,F₁、F₂、F₃ 代的蛋白质含量平均值分别为 37.1,42.9,47.9 μg/mg,F₁、F₂、F₃ 代之间蛋白质含量差异显著,表现为 F₃ > F₂ > F₁,表明随着麦长管蚜世代的发展和 Zn²⁺ 胁迫的积累,蛋白质合成系统对麦长管蚜的保护作用增强。

表 4 Zn²⁺ 处理后麦长管蚜体内蛋白质含量的变化(平均值±标准误)

Table 4 Protein levels in *S. avenae* with Zn²⁺ treatment (mean±SD) μg/mg

Zn ²⁺ / (mmol · L ⁻¹)	蛋白质含量 Protein content			Zn ²⁺ / (mmol · L ⁻¹)	蛋白质含量 Protein content		
	F ₁	F ₂	F ₃		F ₁	F ₂	F ₃
0	32.0±0.79 cY	31.2±0.46 cXY	33.1±0.93 cX	5.0	38.4±0.81 abY	43.0±0.65 abXY	45.6±0.53 abX
2.5	36.4±0.33 bcY	36.3±0.50 bcXY	40.3±0.74 bcX	10.0	36.6±0.28 aY	49.4±0.96 aXY	57.8±1.02 aX

3 讨 论

3.1 生态遗传学参数

本研究结果表明,Zn²⁺ 处理后,麦长管蚜的 T 在低浓度(2.5 mmol/L)时较对照延长,高浓度(5.0~10.0 mmol/L)时则较对照显著缩短; R_0 、 R_m 和 λ 均随 Zn²⁺ 浓度的增加而降低,且均明显低于对照,种群增长受到强烈抑制。一般情况下,昆虫在抵御过量重金属胁迫时会消耗大量的能量,体内碳水化合物、脂类和蛋白质代谢,以及正常的生理功能也会受到严重影响^[14],表现为昆虫世代周期改变,体质量、繁殖力、产卵量降低,死亡率升高,种群数量下降等^[15-17]。重金属对昆虫的效应常因重金属种类、浓度及昆虫种群的不同而有所变化。本研究中,Zn²⁺ 对麦长管蚜生态遗传学参数的影响与其浓度密切相关,高浓度 Zn²⁺ 对麦长管蚜的影响更大。

3.2 抗氧化酶活性

昆虫体内抗氧化酶系统在防御外界不良环境的危害、保护正常生长发育及生理功能的完成、保持种群增长中具有重要作用。昆虫体内的自由基可以通过各种抗氧化酶(如 SOD、CAT、CarE 等)的作用而清除。CarE 和非特异性酯酶在步甲、大蜡螟对重金属的解毒中都发挥着重要作用^[18-20],但抗氧化酶的活性具有种属特异性和高度可变性^[21-22]。本研究中,Zn²⁺ 处理后麦长管蚜 CAT 活性明显低于对照;POD 活性开始受到抑制,但随着世代的发展逐渐表现出不同程度的适应;Zn²⁺ 浓度为 2.5 mmol/L 时,SOD 活性显著高于对照;CarE 的活性则普遍高于对照,说明 Zn²⁺ 对麦长管蚜体内抗氧化酶系统产生

了强烈的破坏作用,但 POD 和 CarE 可在受到胁迫以后快速适应,并及时发挥其保护作用,为生物体的正常发育提供了重要保障。尽管 CAT、POD、SOD 和 CarE 活性因不同浓度 Zn²⁺ 及麦长管蚜的不同世代而存在差异,但 Zn²⁺ 胁迫作用的强弱与其浓度之间普遍存在相关关系,高浓度 Zn²⁺ 处理所产生的胁迫和毒害作用较低浓度 Zn²⁺ 处理强。此外,随着世代的发展,麦长管蚜体内抗氧化酶系统对 Zn²⁺ 胁迫的适应能力也有所增强。

3.3 蛋白质代谢

昆虫常通过金属硫蛋白基因的复制而增加金属硫蛋白表达量,以提高昆虫在重金属胁迫环境中的存活率,在受 Cd、Cu、Zn 胁迫的致倦库蚊 *Culex quinquefasciatus* 幼虫和具 Cd 耐受性的弹尾目昆虫 *Orchesella cincta* 体内,都有高水平的金属硫蛋白表达^[23-24]。本研究中,Zn²⁺ 处理后麦长管蚜体内蛋白质含量显著高于对照,不同浓度 Zn²⁺ 对麦长管蚜体内蛋白质含量的影响差异显著,Zn²⁺ 浓度越高,蛋白质合成系统的应激反应越强,对麦长管蚜的保护作用越强。此外,麦长管蚜体内蛋白质含量随世代的发展而增加,表明蛋白质代谢过程能迅速适应 Zn²⁺ 胁迫。但是,麦长管蚜体内蛋白质含量的增加是否与受到 Zn²⁺ 胁迫后,金属结合蛋白和热休克蛋白的合成代谢增强有关,还需要进一步研究确定。

本研究中,Zn²⁺ 对麦长管蚜的毒害已遗传至后代并在后代中累积,且高浓度 Zn²⁺ 处理的作用比低浓度 Zn²⁺ 处理更强。但有研究者发现,一些重金属如 Pb、Cu、Zn、Mn 等沿食物链低营养级至高营养级放大的趋势不明显,可能与处在高位营养级的生物

体存在更复杂更多的机制,将体内积聚过多的重金属排出体外有关,而这些机制是否存在及其如何起作用目前尚不清楚。本试验对麦长管蚜在受到重金属胁迫时,其生态遗传学参数、抗氧化酶活性和体内蛋白质含量的变化规律进行了研究,但对重金属胁迫的分子机理、DNA 遗传物质的变化及蛋白质合成代谢的具体机制未能进行深入探讨。此外,由于昆虫种属特异性以及重金属作用的多样性,重金属胁迫对昆虫产生各种影响的具体机制还处于推测阶段,均有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] Warchalowska-Sliwa E, Niklińska M, Gêrlich A, et al. Heavy metal accumulation, heat shock protein expression and cytogenetic changes in *Tetrix tenuicornis* (L.) (Tetrigidae, Orthoptera) from polluted areas [J]. *Environmental Pollution*, 2005, 133:373-381.
- [2] 孙虹霞,刘 颖,张古忍. 重金属污染对昆虫生长发育的影响 [J]. *昆虫学报*, 2007, 50(2): 178-185.
Sun H X, Liu Y, Zhang G R. Effects of heavy metal pollution on insects [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2007, 50(2): 178-185. (in Chinese)
- [3] 朱玉芳,吴 康,崔勇华,等. 镉、铅对家蚕蚕质及血细胞 DNA 损伤的影响 [J]. *农业环境保护*, 2002, 21(6): 502-504.
Zhu Y F, Wu K, Cui Y H, et al. Effects of cadmium and lead on cocoon quality and DNA of blood cell in silkworm (*Bombyx mori*) [J]. *Agro-environmental Protection*, 2002, 21(6): 502-504. (in Chinese)
- [4] 吴国星,高 熹,叶恭银,等. 取食重金属铜对棕尾别麻蝇亲代及子代生长发育与繁殖的影响 [J]. *昆虫学报*, 2007, 50(10): 1042-1048.
Wu G X, Gao X, Ye G Y, et al. Effect on the growth, development and reproduction of *Boettcherisca peregrine* (Diptera: Sarcophagidae) in the parental generation and first filial generation [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2007, 50(10): 1042-1048. (in Chinese)
- [5] 王 慧,吴国星,叶恭银,等. 铜和镉在棕尾别麻蝇体内的累积及其对三种抗氧化酶活性的影响 [J]. *浙江大学学报: 农业与生命科学版*, 2006, 32(1): 77-81.
Wang H, Wu G X, Ye G Y, et al. Accumulation of cuprum and cadmium and their effects on the antioxidant enzymes in *Boettcherisca peregrina* exposed to cuprum and cadmium [J]. *Journal of Zhejiang University: Agriculture and Life Sciences*, 2006, 32(1): 77-81. (in Chinese)
- [6] 孙虹霞,周 强,唐文成,等. 食物中 Ni^{2+} 胁迫对斜纹夜蛾幼虫中肠细胞解毒酶的影响 [J]. *科学通报*, 2008, 53(18): 2195-2199.
Sun H X, Zhou Q, Tang W C, et al. Effects of dietary Ni on the detoxifying enzymes in intestinal cells of *Spodoptera litura* [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2008, 53(18): 2195-2199. (in Chinese)
- [7] 张孝羲. 昆虫生态及预测预报 [M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2002: 77-92.
Zhang X X. *Insect ecology and forecast* [M]. 3rd ed. Beijing: China Agricultural Press, 2002: 77-92. (in Chinese)
- [8] Liang Z, Yu C, Huang A H C. Isolation of spinach leaf peroxisomes in 0.25 molar sucrose solution by Percoll density gradient centrifugation [J]. *Plant Physiology*, 1982, 70: 1210-1212.
- [9] Cakmak I, Marschner H. Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase in bean leaves [J]. *Plant Physiology*, 1992, 98: 1222-1227.
- [10] Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase [J]. *European Journal of Biochemistry*, 1974, 47: 469-474.
- [11] Van Asperen K. A study of housefly esterase by means of a sensitive colorimetric method [J]. *Journal of Insect Physiology*, 1962, 8: 401-416.
- [12] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. 分子克隆试验指南 [M]. 北京: 科学出版社, 2002.
Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. *Molecular cloning: a laboratory manual* [M]. Beijing: Science Press, 2002. (in Chinese)
- [13] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye-binding [J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72: 248-254.
- [14] Tylko G, Banach Z, Borowska J, et al. Elemental changes in the brain, muscle, and gut cells of the housefly, *Musca domestica*, exposed to heavy metals [J]. *Microscopy Research and Technique*, 2005, 66(5): 239-247.
- [15] Ruohomaki K, Kaitaniemi P, Kozlov M, et al. Density and performance of *Epirrita autumnata* (Lepidoptera: Geometridae) along three air pollution gradients in northern Europe [J]. *Journal of Applied Ecology*, 1996, 33: 773-785.
- [16] Mousavi S K, Primicerio R, Amundsen P A. Diversity and structure of Chironomidae (Diptera) communities along a gradient of heavy metal contamination in a subarctic watercourse [J]. *Science of the Total Environment*, 2003, 307: 93-110.
- [17] Hayford B L, Ferrington L C. Biological assessment of Cannon Creek, Missouri by use of emerging Chironomidae (Insecta: Diptera) [J]. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 2005, 78: 89-99.
- [18] Polek B, Fric F. Effects of cadmium on non-specific monoesterase activity and protein pattern in *Galleria mellonella* and *Agrotis segetum* larvae [J]. *Biologia (Bratislava)*, 1988, 43: 169-174.
- [19] Stone D, Jepson P, Laskowski R. Trends in detoxification enzymes and heavy metal accumulation in ground beetles (Coleoptera: Carabidae) inhabiting a gradient of pollution [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology C-Toxicology and*

Pharmacology,2002,132:105-112.

[20] Wilczek G,Kramarz P,Babczynska A. Activity of carboxylesterase and glutathione S-transferase in different life stages of carabid beetle (*Poecilus cupreus*) exposed to toxic metal concentrations [J]. Comparative Biochemistry and Physiology C-Toxicology and Pharmacology,2003,134:501-512.

[21] Zvereva E,Serebrov V,Glupov V, et al. Activity and heavy metal resistance of non-specific esterases in leaf beetle *Chrysomela apponica* from polluted and unpolluted habitats [J]. Comparative Biochemistry and Physiology C-Toxicology and Pharmacology,2003,135:383-391.

[22] Migula P, Laszczyca P, Augustyniak M, et al. Antioxidative defence enzymes in beetles, from a metal pollution gradient [J]. Biologia (Bratislava),2004,59:645-654.

[23] Sarkar S, Duttagupta A, Mal T. Effects of heavy metals on population growth and metallothionein gene expression in the mosquito *Culex quinquefasciatus*, from Calcutta, India [J]. Environmental Pollution,2004,127:183-193.

[24] Sterenborg I, Roelofs D. Field-selected cadmium tolerance in the springtail *Orchesella cincta* is correlated with increased metallothionein mRNA expression [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology,2003,33:741-747.

(上接第 130 页)

[18] Kawasaki T, Henmi K, Ono E, et al. The small GTP-binding protein rac is a regulator of cell death in plants [J]. Proc Natl Acad Sci USA,1999,96(19):10922-10926.

[19] Bethke P C, Jones R L. Cell death of barley aleurone protoplasts is mediated by reactive oxygen species [J]. Plant J, 2001,25(1):19-29.

[20] Neill S J, Desikan R, Hancock J T. Hydrogen peroxide signalling [J]. Current Opinion in Plant Biology,2002,5(5):388-395.

[21] Neill S J, Desikan R, Clarke A, et al. Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants [J]. J Exp Bot, 2002,53(372):1237-1247.

[22] Orozco-Cardenas M L, Narvaez-Vasquez J, Ryan C A. Hydrogen peroxide acts as a second messenger for the induction of defense genes in tomato plants in response to wounding, systemin, and methyl jasmonate [J]. Plant Cell, 2001,13(1):179-191.

[23] Blee K A, Jupe S C, Richard G, et al. Molecular identification and expression of the peroxidase responsible for the oxidative burst in French bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and related members of the gene family [J]. Plant Mol Biol,2001,47(5):607-620.

[24] 李振岐,曾士迈. 中国小麦锈病 [M]. 北京:中国农业出版社,2002:145-152.

Li Z Q, Zen S M. Wheat rust in China [M]. Beijing: Chinese Agriculture Press,2002:145-152. (in Chinese)

[25] Lange B M, Lapierre C, Sandermann H J. Elicitor-Induced spruce stress lignin (structural similarity to early developmental lignins) [J]. Plant Physiol,1995,108(3):1277-1287.