

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2012.02.006

辣椒碱对烟粉虱体内羧酸酯酶、谷胱甘肽 S-转移酶和乙酰胆碱酯酶活性的影响

吴咚咚¹, 赵建伟², 陈颖³, 郑宇², 何玉仙^{2*}

¹福州市农业科学研究所,福建福州350018; ²福建省农业科学院植物保护研究所,福建福州350013; ³泉州市农业局,福建泉州362000

摘要:【背景】烟粉虱作为世界性的多食性害虫,对我国农业生产造成了严重危害。已有研究表明,许多植物的次级代谢产物能够对烟粉虱解毒酶和靶标酶活性产生影响。【方法】采用常规生化方法研究了辣椒碱对烟粉虱体内羧酸酯酶(CarE)、谷胱甘肽S-转移酶(GSTs)和乙酰胆碱酯酶(AChE)活性的影响。【结果】与对照相比,500 mg·L⁻¹辣椒碱处理烟粉虱成虫后6 h,CarE活性被激活,其他时段被抑制;1000 mg·L⁻¹辣椒碱处理后6,12,48 h,CarE活性受到抑制,其他时段被激活;2000 mg·L⁻¹辣椒碱处理后6 h,CarE活性受到抑制,其他时段被激活;4000 mg·L⁻¹辣椒碱处理后3,12 h,CarE活性受到抑制,其他时段被激活;8000 mg·L⁻¹辣椒碱处理后1 h,CarE活性被激活,其他时段受到抑制。辣椒碱对烟粉虱体内GSTs活性的诱导存在剂量和时间效应,8000 mg·L⁻¹辣椒碱处理烟粉虱成虫后24和48 h,GSTs活性受到明显抑制,其余各处理在任何时段GSTs活性均被激活而高于对照。辣椒碱各浓度处理对烟粉虱体内AChE活性的诱导存在时间效应,各处理均在处理后48 h对AChE活性产生了抑制作用。【结论与意义】辣椒碱对烟粉虱体内的解毒酶CarE和GSTs、靶标酶AChE活性具有明显影响,且存在剂量或时间效应,这可为辣椒碱在生物农药领域的应用提供理论依据。

关键词: 辣椒碱; 烟粉虱; 入侵昆虫; 羧酸酯酶; 谷胱甘肽S-转移酶; 乙酰胆碱酯酶; 生物防治

Effects of capsaicin on the activities of carboxylesterase, glutathione S-transferase and acetylcholinesterase in *Bemisia tabaci*

Dong-dong WU¹, Jian-wei ZHAO², Ying CHEN³, Yu ZHENG², Yu-xian HE^{2*}

¹Institute of Agricultural Sciences of Fuzhou, Fuzhou, Fujian 350018, China; ²Institute of Plant Protection, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, Fujian 350013, China; ³Agriculture Bureau of Quanzhou, Quanzhou, Fujian 362000, China

Abstract:【Background】The sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci* Gennadius, is one of the most important pests worldwide, and has caused serious damage to agriculture production in China. Plant secondary metabolites may significantly affect the activity of several enzymes involved in detoxification, including carboxylesterase (CarE), glutathione S-transferase (GSTs) and acetylcholinesterase (AChE) in *B. tabaci*. 【Method】The effects of capsaicin on activities of CarE, GSTs and AChE in *B. tabaci* were tested by conventional biochemical methods. 【Result】After exposed to 500 mg·L⁻¹ capsaicin, CarE was activated at 6 h, but was inhibited at other times when the capsaicin concentration was increased to 1000 mg·L⁻¹, the activity was inhibited at 6 h, 12 h and 48 h, but was activated at other times; at 2000 mg·L⁻¹, the activity was inhibited at 6 h, but was activated at other times. Treatment with 4000 mg·L⁻¹ capsaicin caused inhibition at 3 h and 12 h, but activation at other times; at 8000 mg·L⁻¹, the enzyme was activated at 1 h, but inhibited at other times. At a concentration of 8000 mg·L⁻¹, the activity of GSTs was inhibited significantly at 24 h and 48 h, but was activated at other times and other concentrations. In the case of AchE, the activity inhibition happened at 48 h after every concentration of capsaicin application. 【Conclusion and significance】The capsaicin may significantly affect the enzyme activities of CarE, GSTs and AChE in *B. tabaci* with the dose- or time-dependent effects. This study could provide a basis for capsaicin application against *B. tabaci*.

Key words: capsaicin; *Bemisia tabaci*; invasive insect; carboxylesterase; glutathione S-transferase; acetylcholinesterase; biological control

收稿日期(Received): 2011-12-31 接受日期(Accepted): 2012-02-19

基金项目: 农业公益性行业科研专项(200803005); 福建省科技重点项目(2008N0114); 福建省财政专项——福建省农业科学院科技创新团队建设基金项目(STIF-Y07)

作者简介: 吴咚咚,女,硕士。研究方向:植物检疫。E-mail: ddw2012v@126.com

* 通讯作者(Author for correspondence), E-mail: hyx163@yahoo.com.cn

烟粉虱 *Bemisia tabaci* Gennadius 是一种世界性分布的多食性害虫, 其中, B 型烟粉虱几乎在全世界均有分布, 其他生物型多为区域性分布(段晓东等, 2011)。据估计, 目前烟粉虱的寄主植物种类已超过 600 种(Oliveira *et al.*, 2001)。B 型烟粉虱对不同寄主植物的选择性有明显差异, 对辣椒 *Capsicum annuum* L. 韧皮部极不适应, 不能持续吸食(曹凤勤等, 2008; 吴青君等, 2004; 岳梅等, 2006)。赵建伟等(2009)研究发现, 辣椒不是 B 型烟粉虱的适宜寄主, B 型烟粉虱若虫甚至无法在辣椒上存活并完成世代发育。

辣椒碱作为辣椒属植物的次级代谢产物, 是一种极度辛辣的香草酰胺类生物碱, 具有抗菌、杀虫的药理作用, 对桃蚜 *Myzus persicae* (Sulzer) 具有较强的毒力和良好的防治效果(冯纪年等, 2005; 李家玉等, 2009; 刘新和林永, 2003)。赵建伟等(2011)研究表明, 辣椒碱对烟粉虱各虫态均有直接的致死作用。植食性昆虫常依靠其体内具普遍防御性的酶系(如微粒体多功能氧化酶、酯酶和谷胱甘肽 S-转移酶)来克服其食物中的潜在毒性(姚洪渭等, 2002)。而植物次生物质可激活或抑制害虫体内相关解毒酶系的活性, 从而导致其对药剂的敏感性发生明显改变(Brattsten, 1988)。辣椒碱作为新型绿色农药, 对防除蚜虫和烟粉虱等农业害虫具有良好的效果, 可代替生产上常用的毒性大、残留量高的有机磷、有机氯、氨基甲酸酯类化学农药, 对于降低化学农药残留和保护生态环境具有重要意义。本文主要研究以辣椒碱不同剂量处理后不同时段烟粉虱体内解毒酶、靶标酶活性的变化情况, 以期阐明辣椒碱杀虫活性的生化机制, 为烟粉虱的抗药性治理和辣椒碱在生物农药领域的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试寄主植物 棉花 *Gossypium hirsutum* L. 种子由福州永菜种子有限公司提供, 试验前种植于育苗室, 常规水肥管理, 全生育期未施农药。

1.1.2 供试昆虫 烟粉虱为福建省农业科学院植物保护研究所室内(温度 25 °C, 相对湿度 65%, 光

照 14L: 10D)长期饲养的试验种群, 经鉴定为 B 型(何玉仙等, 2006a)。

1.1.3 供试药剂 98% 辣椒碱由陕西森弗生物技术有限公司提供, α-乙酸萘酯(α-NA, 99.95%)由中国上海青浦合成试剂厂提供, 固蓝 RR 盐(Fast Blue RR salt)由厦门泰京生物技术有限公司提供, 碘化硫代乙酰胆碱(ATChI)由 Fluka 公司提供, 二硫代双对硝基苯甲酸(DTNB)由上海化学试剂厂提供, 还原型谷胱甘肽(GSH)由上海生工生物工程有限公司提供, 考马斯亮蓝 G-250 由中国医药集团上海化学试剂分公司提供; 其他试剂均为分析纯。

1.2 方法

1.2.1 辣椒碱对烟粉虱成虫的毒力测定 采用成虫浸叶生测法(何玉仙等, 2006b)进行测定。用打孔器将未被药剂污染的新鲜棉花叶打成直径 35 mm 的小圆片, 将小圆片分别浸入用去离子水(含 0.1% Triton X-100)配制的浓度为 500、1000、2000、4000 和 8000 mg · L⁻¹ 的供试药液中, 5 s 后取出, 自然晾干后叶片正面朝下铺在直径为 35 mm 的培养皿中(预先倒入 12 g · L⁻¹ 琼脂)。将烟粉虱雌成虫用 CO₂ 短暂麻醉后, 转移至培养皿中, 每个培养皿放 20~30 头, 盖上具透气网的盖子, 并将其倒置于温度 25 °C、相对湿度 65%、光照 14: 10(L:D)的培养箱中, 48 h 后统计死亡率。每个浓度设 3 次重复, 以去离子水(含 0.1% Triton X-100)处理为对照。采用 DPS 统计软件求出毒力回归方程、LC₅₀ 及 95% 置信限。

1.2.2 辣椒碱对烟粉虱体内酶活性的影响测定 以 500、1000、2000、4000 和 8000 mg · L⁻¹ 辣椒碱溶液处理烟粉虱雌成虫(方法同 1.2.1), 分别于处理后 1、3、6、12、24、48 h 挑取存活试虫备用。

(1) 羧酸酯酶(carboxylesterase, CarE)活性测定: 每个处理挑取 100 头烟粉虱雌成虫置于 1.5 mL Eppendorf 管中, 加入 1.0 mL 0.2 mol · L⁻¹ 磷酸缓冲液(pH 6.0), 在冰浴中充分匀浆后, 4 °C、10000 r · min⁻¹ 条件下离心 10 min, 取上清液稀释 10 倍作为酶源(何玉仙等, 2007)。

(2) 谷胱甘肽 S-转移酶(glutathione S-transferase, GSTs)活性测定: 每个处理挑取 100 头烟粉虱雌成虫置于 1.5 mL Eppendorf 管中, 加入 1.0 mL 0.06 mol · L⁻¹ 磷酸缓冲液(pH 7.0), 在冰浴中充分

匀浆后,4℃、10000 r·min⁻¹条件下离心10 min,取上清液作为酶源(何玉仙等,2007)。

(3)乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase,AChE)活性测定:每个处理挑取100头烟粉虱雌成虫置于1.5 mL Eppendorf管中,加入1.0 mL 0.1 mol·L⁻¹含0.1% Triton X-100的磷酸缓冲液(pH 7.5),在冰浴中充分匀浆后,4℃、10000 r·min⁻¹条件下离心10 min,取上清液稀释5倍作为酶源(何玉仙等,2008)。

(4)酶源蛋白质含量测定:采用考马斯亮蓝G-250染色法(Bradford,1976)进行测定。

2 结果与分析

2.1 辣椒碱对烟粉虱成虫的毒力

辣椒碱对烟粉虱成虫具有明显的致死作用,辣椒碱作用24 h的毒力回归方程为 $Y = 4.8775X - 12.3018$, R^2 为0.9946, LC_{50} 为3525.79 mg·L⁻¹,95%置信区间为3191.68~3849.78 mg·L⁻¹。

2.2 辣椒碱对烟粉虱体内CarE活性的影响

辣椒碱对烟粉虱体内CarE活性的影响见图1。500 mg·L⁻¹辣椒碱处理烟粉虱成虫后1~3 h,CarE活性受到抑制;处理后6 h活性被激活而高于对照;处理后12~48 h活性再次受到抑制。1000 mg·L⁻¹辣椒碱处理后1~3 h,CarE活性被激活;处理后6~12 h活性受到抑制而低于对照;处理后24~48 h又产生一个激活和抑制的波动。2000 mg·L⁻¹辣椒碱处理后1~3 h,CarE活性被激活;处理后6 h活性受到抑制;处理后12~48 h活性被激活而高于对照,48 h时活性达到最高。4000 mg·L⁻¹辣椒碱处理后1、6、24和48 h CarE活性被激活而高于对照;处理后3和12 h活性受到抑制。8000 mg·L⁻¹辣椒碱处理后1 h CarE活性被激活;处理后3~48 h活性受到抑制。可见,辣椒碱对烟粉虱体内CarE活性存在一个诱导激活与抑制反馈反复作用的过程。

2.3 辣椒碱对烟粉虱体内GSTs活性的影响

辣椒碱对烟粉虱体内GSTs活性的影响见图2。8000 mg·L⁻¹辣椒碱处理烟粉虱成虫后24~48 h,4000 mg·L⁻¹辣椒碱处理烟粉虱成虫后6 h GSTs活性受到明显抑制。其余各处理GSTs活性均被激活而高于对照,但被激活程度随处理时间的延长而波动。

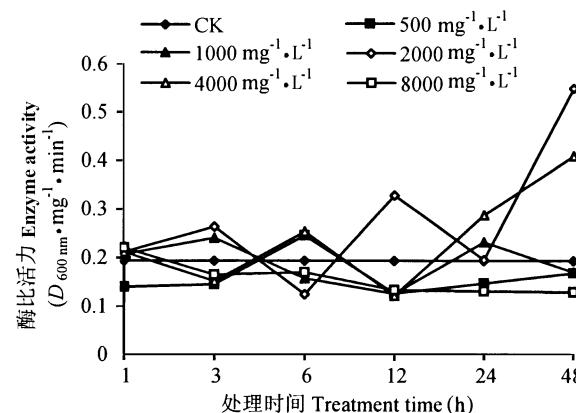


图1 不同浓度辣椒碱对烟粉虱体内CarE活性的影响

Fig. 1 Effects of capsaicin at different concentrations on CarE activity in *B. tabaci*

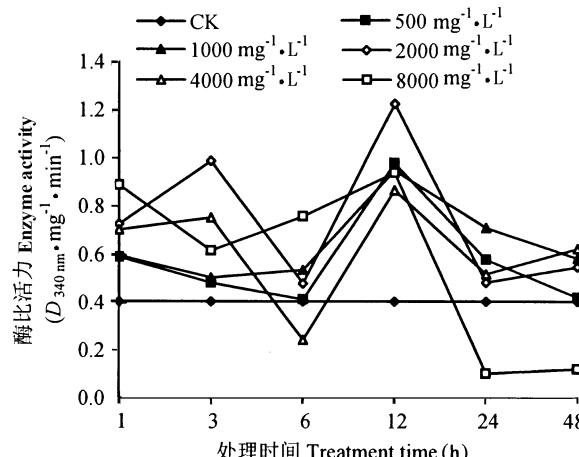


图2 不同浓度辣椒碱对烟粉虱体内GSTs活性的影响

Fig. 2 Effects of capsaicin at different concentrations on GSTs activity in *B. tabaci*

2.4 辣椒碱对烟粉虱体内AChE活性的影响

辣椒碱对烟粉虱体内AChE活性的影响见图3。各浓度辣椒碱对烟粉虱体内AChE活性存在时间效应,均在处理后48 h对AChE活性产生了抑制作用。其中,500 mg·L⁻¹辣椒碱处理烟粉虱成虫后1 h,AChE活性受到抑制;处理后3~12 h活性被激活而高于对照;处理后24~48 h AChE活性再次受到抑制。1000和8000 mg·L⁻¹辣椒碱处理后1 h,AChE活性受到抑制;处理后3~24 h其活性被激活而高于对照;处理后48 h再次受到抑制。2000 mg·L⁻¹辣椒碱处理后1~12 h,AChE活性被激活;而处理后24~48 h其活性受到抑制。4000 mg·L⁻¹辣椒碱处理后1~6 h,AChE活性被激活;处理后12~48 h活性受到抑制。

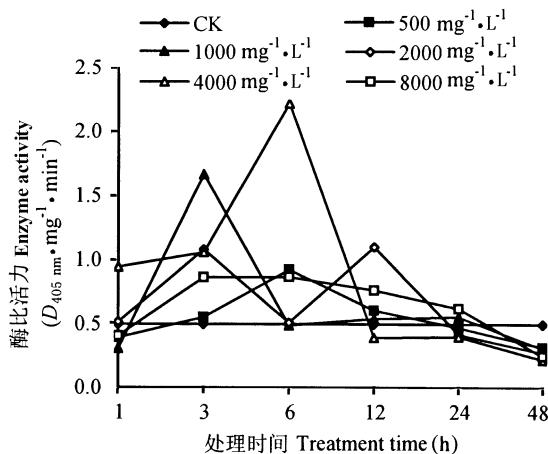


图 3 不同浓度辣椒碱对烟粉虱体内 AChE 活性的影响

Fig. 3 Effects of capsaicin at different concentrations on AChE activity in *B. tabaci*

3 小结与讨论

害虫的抗药性问题已逐渐成为影响农业生产的重要因素之一,化学药剂的过量使用不仅提高了农业生产成本,而且增大了食品安全风险。因此,寻求化学防治之外的新技术就成为害虫综合治理领域的新热点。植物体内的部分次生代谢物质具有一定的杀虫活性,且这些物质在长期的进化过程中已经形成了固定的参与能量与物质循环的代谢途径,因此,在实际使用中不易产生残留及生物富集现象,害虫不易产生抗药性(李慕春等,2010)。目前,许多植物源生物碱已被作为杀虫剂开发利用,如苦参碱、苦豆碱、小檗碱、百部碱等。

已有研究表明,野靛碱和苦豆碱、葫芦素 B 均对烟粉虱体内的 CarE 活性具有抑制作用(罗万春和张强,2003; 张爱萍等,2008),而槲皮素对 B 型烟粉虱成虫体内 CarE 有诱导增多作用(牟少飞等,2006)。雷公藤生物碱也可显著激活粘虫 *Mythimna separata* (Walker) 体内的 CarE 活性(周琳等,2008)。本研究发现,经 500、1000、2000、4000 mg · L⁻¹ 辣椒碱处理后,烟粉虱体内 CarE 活性随着处理时间的延长呈现一种波动状态,说明较低剂量辣椒碱对 CarE 可能存在一个诱导激活与抑制反馈作用的过程;而在高剂量(8000 mg · L⁻¹)处理后 1 h,CarE 活性被激活,随后时段则受到抑制。据此推断,植物源生物碱对害虫体内 CarE 活性的影响可能与生物碱的处理剂量和处理时间密切相关。

陈列忠等(2005)研究发现,在亚致死质量浓度下,雷公藤总生物碱可显著抑制摇蚊 Chironomidae 体内的 GSTs 活性。而周琳等(2008)报道,雷公藤生物碱对 GSTs 活性的影响表现为先激活后抑制。刘少武等(2008)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,从而减弱害虫对药剂的抵抗力,但其并不能够完全抑制 GSTs 活性,且不同浓度辣椒碱对 GSTs 抑制能力的差异呈不规则变化。本研究表明,辣椒碱对烟粉虱体内 GSTs 活性的诱导存在剂量和时间效应,低浓度可诱导 GSTs 活性增强,说明烟粉虱对低剂量的辣椒碱存在解毒机制,即 GSTs 活性的增强加大了其对辣椒碱的代谢作用,这是烟粉虱对外界刺激的一种适应机制。但高浓度的辣椒碱对烟粉虱有较强的毒害作用并抑制了 GSTs 活性,因此,高剂量(8000 mg · L⁻¹)处理后短时间内可诱导 GSTs 活性增高,24 h 后则表现较强的抑制作用。

AChE 是动物体内广泛存在的在神经传递过程中起重要作用的一种酶,此酶一旦被抑制达一定程度时,会使动物过度兴奋而死亡(唐培安等,2007)。据报道,苦豆子总生物碱、野靛碱、槐安碱、槐碱、槐果碱、氧化苦参碱、苦参碱和苦豆碱、石松生物碱对 AChE 活性均具有抑制作用(罗万春等,1997; 徐莉娜等,2007)。苦参碱可明显抑制小菜蛾 *Plutella xylostella* (L.) 体内的 AChE 活性,造成其神经兴奋传导受阻(黄劲飞等,2010);烟碱对害虫的毒杀机制是抑制乙酰胆碱受体(AChR),持续激活神经,使虫体持续痉挛,麻痹死亡(吴琼等,2011)。本研究表明,各浓度辣椒碱在处理后 36 ~ 48 h 烟粉虱体内的 AChE 活性均受到抑制,存在明显的时间效应。这与刘少武和纪明山(2008)的研究结果一致。但 AChE 是否为辣椒碱的一个作用位点还有待进一步研究确定。

参考文献

- 曹凤勤, 刘万学, 范中南, 万方浩, 程立生. 2008. B 型烟粉虱对三种寄主植物及其挥发物的行为反应. 昆虫学报, 51(8): 830–838.
- 陈列忠, 王开金, 陈建明, 吕仲贤, 郑许松, 徐红星, 张珏锋, 俞晓平. 2005. 雷公藤生物碱对小菜蛾幼虫生长及其

- 解毒酶系的影响. 华东昆虫学报, 14(3): 238–242.
- 段晓东, 马丽娟, 姚正培, 曹骞, 冷春丽, 马德英. 2011. 新疆地区烟粉虱类群 mtDNA COI 基因序列分析. 生物安全学报, 20(1): 50–55.
- 冯纪年, 付健, 韩明理. 2005. 辣椒碱的研究概述. 西北农学报, 14(1): 84–87.
- 何玉仙, 黄建, 翁启勇, 梁智生. 2008. B型烟粉虱田间种群对毒死蜱和敌敌畏抗性的生化机制. 昆虫学报, 51(4): 384–389.
- 何玉仙, 黄建, 杨秀娟, 翁启勇. 2007. 烟粉虱对拟除虫菊酯杀虫剂的抗性机理. 昆虫学报, 50(3): 241–247.
- 何玉仙, 杨秀娟, 翁启勇, 黄建, 王利华. 2006a. 福建省烟粉虱生物型鉴定. 福建农林大学学报: 自然科学版, 35(5): 486–490.
- 何玉仙, 梁智生, 林桂君, 吴咚咚, 黄建. 2006b. 烟粉虱成虫对烟碱类杀虫剂抗性的生物测定方法. 福建农林大学学报: 自然科学版, 35(2): 143–146.
- 黄劲飞, 贾建文, 罗建军, 翁群芳, 钟国华. 2010. 6种生物碱对斜纹夜蛾离体培养细胞的作用方式. 华中农业大学学报, 29(1): 31–36.
- 李家玉, 王海斌, 林志华, 陈荣山, 何海斌. 2009. 植物次生代谢物的结构、生物合成及其功能分析——生物碱. 农业科学研究, 30(4): 68–72.
- 李慕春, 张静, 古丽克孜·阿日甫, 阿依古丽·塔西. 2010. 辣椒碱与茶皂素对棉蚜的毒力测定及田间药效试验. 新疆农业科学, 47(6): 1132–1136.
- 刘少武, 纪明山. 2008. 辣椒碱对小菜蛾体内乙酰胆碱酯酶和羧酸酯酶的影响. 中国植保导刊, 28(4): 8–9, 18.
- 刘少武, 纪明山, 谷祖敏, 魏松红, 王英姿. 2008. 辣椒碱对小菜蛾体内谷胱甘肽S-转移酶和 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATP酶活性的影响. 农药学学报, 10(2): 240–242.
- 刘新, 林永. 2003. 辣椒碱对桃蚜的生物活性及其与几种杀虫剂的联合作用. 农药学学报, 5(2): 94–96.
- 罗万春, 慕立义, 李云寿. 1997. 植物源生物碱的杀虫作用. 农药, 36(7): 11–15.
- 罗万春, 张强. 2003. 苦豆子生物碱对小菜蛾体内部分杀虫剂代谢酶活性的影响. 昆虫学报, 46(1): 122–125.
- 牟少飞, 梁沛, 高希武. 2006. 榆皮素对B型烟粉虱羧酸酯酶和谷胱甘肽转移酶活性的影响. 昆虫知识, 43(4): 491–495.
- 唐培安, 邓永学, 王进军. 2007. 甲酸乙酯对米象乙酰胆碱酯酶和羧酸酯酶的影响. 植物保护, 33(1): 44–47.
- 吴青君, 徐宝云, 朱国仁, 张友军. 2004. B型烟粉虱对不同蔬菜品种趋性的评价. 昆虫知识, 41(2): 152–154.
- 吴琼, 谭娟娟, 刘业明, 史载锋. 2011. 植物生物碱杀虫剂研究进展. 安徽农业科学, 39(15): 9033–9034.
- 徐莉娜, 刘怡亚, 卢丽丹. 2007. 石松生物碱对东乡伊蚊幼虫体内乙酰胆碱酯酶活性的影响. 中国媒介生物学及控制杂志, 18(1): 26–28.
- 姚洪渭, 叶恭银, 程家安. 2002. 寄主植物影响害虫药剂敏感性的研究进展. 昆虫学报, 45(2): 253–264.
- 岳梅, 罗晨, 郭晓军, 张芝利. 2006. B型烟粉虱在甘蓝、西葫芦和辣椒上的刺吸取食行为. 昆虫学报, 49(4): 625–629.
- 张爱萍, 宋敦伦, 史雪岩, 梁沛, 高希武. 2008. 三种植物次生物质对B型烟粉虱羧酸酯酶活性及其对药剂敏感度的影响. 农药学学报, 10(3): 292–296.
- 赵建伟, 何玉仙, 翁启勇, 吴咚咚. 2009. 寄主植物对B型烟粉虱选择行为和生物学参数的影响. 应用生态学报, 20(9): 2249–2254.
- 赵建伟, 郑宇, 何玉仙, 翁启勇. 2011. 辣椒碱对烟粉虱的生物活性、生长发育和生殖力的影响. 应用生态学报, 23(2): 531–535.
- 周琳, 马志卿, 冯俊涛, 张兴. 2008. 雷公藤总生物碱对粘虫生长发育及几种代谢酶系的影响. 昆虫学报, 51(11): 1151–1156.
- Bradford M M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248–254.
- Brattsten L B. 1988. Potential role of plant allelochemicals in the development of insecticide // Barbosa P and Letourneau D K. *Novel Aspects of Insect-Plant Interactions*. New York: Wiley, 313–348.
- Oliveira M R V, Henneberry T J and Anderson P. 2001. History, current status, and collaborative research projects for *Bemisia tabaci*. *Crop Protection*, 20: 709–723.

(责任编辑:杨郁霞)