人工饲料 pH 值对桃蚜存活、繁殖及抗氧化酶活性的影响*

高文兴 陈红印** 张礼生

(中国农业科学院植物保护研究所生物防治农业部重点开放实验室 北京 100081)

摘 要 通过测定在不同 pH 值饲料上桃蚜 *Myzus persicae* (Sulzer)的存活率、繁殖率及其抗氧化酶活性的变化,评价饲料 pH 值对桃蚜生态和生理指标的影响,筛选扩繁桃蚜饲料最适 pH 值。结果显示:不同 pH 值人工饲料饲喂桃蚜,其存活率 3 d 后即呈现显著差异,在试验调查时间内,饲料 pH 值为 7.0 处理的存活率、单雌产蚜量和内禀增长率均为最高;不同处理桃蚜体内的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)活性与对照处理相比均存在显著性差异,在 24 h 左右达到最大值,而后有所下降;饲料 pH 值为 7.0 和 7.2 两处理的酶活性变化幅度较小,在 48 h 后接近正常水平。试验结果表明,扩繁桃蚜较适合的人工饲料 pH 值为 7.0 左右。

关键词 桃蚜,人工饲料,pH 值,SOD,CAT

Effects of diets pH value on survival, fecundity and antioxidant enzyme activities of green peach aphid, *Myzus persicae*

GAO Wen-Xing CHEN Hong-Yin** ZHANG Li-Sheng

(Key Laboratory for Biological Control of Ministry of Agriculture, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract The effect of dietary pH on eco-physiological indices of the green peach aphid *Myzus persicae* (Sulzer) were investigated and the optimal pH value for artificial diets for this insect was determined. Significant differences in survival rates were observed in aphids fed diets of different pH after 3 days. The highest survival rate was recorded in aphids fed a diet with a pH of 7.0. SOD and CAT activity significantly increased in all treatments compared to the control. The antioxidant enzyme activity of aphids fed diets with pH 7.0 and 7.2 changed little, and recovered to near normal levels after 48 h. The most suitable pH for an artificial diet for the green peach aphid is 7.0.

Key words *Myzus persicae*, artificial diet, pH value, SOD, CAT

利用人工饲料进行桃蚜的饲养和相关实验,可使蚜虫在脱离寄主植物后能够长期存活和繁殖,获得生理状况一致的桃蚜,节约试验成本,节省人力、物力和空间。为开展蚜虫传播病毒机制、营养生理、共生菌、毒理与杀虫活性物质生物测定等研究提供了方便(纠敏和刘树生,2004),也可为天敌昆虫的饲养提供充足的食物。进一步可以利用饲料作为介质,定性、定量进行评价转基因植物表达的毒蛋白、农药等毒性物质对天敌昆虫的影响。

以人工饲料作为蚜虫的营养源,由于生境的改变,会刺激虫体内超氧阴离子自由基(O_2^-)、过氧化氢(H_2O_2)和氢氧自由基(HO·)等自由基的大量产生,对生物机体产生伤害。蚜虫对逆境的适应过程中,会对自身体内生理功能进行调整,如提高超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)的活性,来清除这些具有强氧化能力的自由基(史冬燕,2009)。可根据抗氧化酶活性的变化来判断生境对生物体的适合情况,作为生境适合性的一个指标。

* 资助项目:公益性行业(农业)科研专项(200803032)、国家科技支撑计划项目(2006BAD08A02)、中国 - 美国生物防治国际合作项目。

** 通讯作者,E-mail:hongyinchen@bbn.cn

收稿日期:2010-05-07,接受日期:2010-10-25

在人工饲料开发中，营养成分及其含量、pH 值等在饲料适合性方面起着重要的作用。饲料的 pH 值是决定饲料适合性的关键因子，能够直接或间接地影响昆虫对食物的取食量和消化量，最终影响昆虫生长发育（黄建辉等，1997），是饲料配方配制和改进中需要优先解决的问题。Parry 和 Ford（1967）证实桃蚜 *Myzus persicae*（Sulzer）的 3 个品系在刺透泊拉膜取食人工饲料的能力是不同的。棉蚜 *Aphis gossypii*（Glover）人工饲料的最佳 pH 为 7.4 至 7.7（李彩霞等，1997），麦长管蚜 *Sitobion avenae*（Fabricius）全纯人工饲料的适宜 pH 值为 6.0（陈巨莲等，2000）。鉴于寄主植物和蚜虫种类及品系的不同，可能对于同一饲料不同蚜虫品系的适合性不一定相同，因此作者依据前人的研究成果，对本地桃蚜种群的适合 pH 值进行筛选，从存活率、繁殖率和抗氧化酶活性的变化来评价饲料 pH 值对桃蚜的影响，以期得到本地桃蚜种群较适合的饲料 pH 值。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

桃蚜采自中国农业科学院植物保护研究所生物防治研究室温室种植的油菜（*Brassica campestris*）上，油菜品种为北极油菜。饲养条件为：温度（20 ± 1）℃，光周期 L∶D = 16∶8，湿度 75% ± 5%。

1.2 人工饲料

人工饲料配方依据 Mittler（1971）及其他科研成果（柯礼道和钦俊德，1983），并做适当改进。配制完成后经细菌过滤器过滤，然后分装于 5 mL 离心管中，置于 -20℃ 冰箱中冷藏保存，根据每次试验所需饲料量取用，避免反复冻融导致饲料营养成分丧失。

1.3 试验仪器及试剂

主要仪器：离心机（Sigma 3K15）、紫外可见分光光度计（Unico uv - 2102 pcs）、酸度计（PHS - 3C 酸度计，上海理达仪器厂）、电热恒温水浴锅（DZKW-S-4，北京永光明医疗仪器厂）、电子天平（Startorius BS223S）等。

主要试剂：邻苯三酚、三羟甲基氨基甲烷、盐酸、H_2O_2、钼酸铵、蔗糖、氨基酸、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、烟酸、生物素等，以上试剂均为国产分析纯。

1.4 试验方法

1.4.1 不同 pH 值条件下桃蚜的存活和繁殖情况调查

1.4.1.1 存活率调查 以酸度计为指示利用 30% KOH 分别将饲料的 pH 值调节至 6.8、7.0、7.2 和 7.4。每处理饲养 30 头 3 龄左右若蚜，每隔 24 h 观察并记录桃蚜存活率，连续观察 10 d，每处理重复 5 次，试验在上述条件的人工气候箱中进行。

1.4.1.2 繁殖率调查 蚜虫发育至成虫，调查记录每天产生的若蚜数，采用内禀增长率（李丽莉等，2007）来表示。

1.4.2 桃蚜体内保护酶活性的测定 将油菜上饲养的桃蚜转移至不同 pH 值的人工饲料上，分别测定 6、12、24 和 48 h 后 3 龄桃蚜的过氧化氢酶及超氧化物歧化酶的活性，每处理重复 3 次，与天然寄主上桃蚜的酶活指标进行对比，评价饲料 pH 值对桃蚜的影响。

SOD 活性参照蔡英卿等（2006）的方法测定，并做适当改进。

CAT 活性参照周强和曹春艳（2001）的方法测定，并做适当改进。

1.5 数据分析方法

利用 SAS（8.0）软件分析系统对试验数据进行处理分析，方差分析利用单因素 Fisher's LSD 多重比较的方法。

2 结果与分析

2.1 pH 值对桃蚜存活率的影响

桃蚜由油菜转移至新的营养环境，由于生活环境的改变，如营养成分、含量的不同、pH 值的差异等，蚜虫需要对自身生理功能进行调节适应新的生境。若营养成分、pH 值等因子差异较大，将导致蚜虫不能适应而死亡。由表 1 可知，转移至人工饲料上 3 d 后，pH = 7.0 和 pH = 7.2 处理的存活率即显著高于其他 2 处理。5 d 后，pH = 7.0 和 pH = 7.2 2 处理、pH = 7.2 与 pH = 7.4 2 处理之间无显著差异，pH = 6.8 处理的存活率最低，其他 3 处理均与 pH = 6.8 处理之间存在显著差异。7 d 后，pH = 7.0 和 pH = 7.2 两处理之间存活率无显著差异，但明显高于其他 2 处理。10 d 后，pH =

6.8 和 pH = 7.4 2 处理的存活率下降至 60% 左右，　pH = 7.0 处理的存活率最高，为 94% 左右。

表 1　人工饲料 pH 值对桃蚜存活率的影响(平均数 ± 标准误)

Table 1　Effects of pH value on the survival rates of green peach aphid (mean ± *SE*)

	存活率 Survival rate				
	1 d 后	3 d 后	5 d 后	7 d 后	10 d 后
pH6.8	97.5% ±0.02 a	90.8% ±0.04 b	83.3% ±0.06 c	79.2% ±0.05 b	64.2% ±0.05 b
pH7.0	100% ±0 a	100% ±0 a	99.2% ±0.01 a	98.4% ±0.01 a	94.2% ±0.01 a
pH7.2	100% ±0 a	100% ±0 a	96.7% ±0.01 ab	95.0% ±0.01 a	93.3% ±0.01 a
pH7.4	98.3% ±0.01 a	92.5% ±0.02 b	88.3% ±0.01 bc	80.0% ±0.06 b	56.7% ±0.06 b

注:表中同列数据后不同英文字母表示在 0.05 水平差异显著,下表同。

Data followed by different letters in the same column indicate significantly different at 0.05 level. The same below.

2.2　pH 值对桃蚜繁殖的影响

内禀增长率 r_m 是物种繁殖力的重要衡量指标,可以灵敏地反映出环境条件的细微变化对种群的影响。由图 1 可知,饲料各处理与油菜上的桃蚜相比,单雌产蚜量和内禀增长率均存在显著差异,均显著低于对照。饲料处理中 pH = 7.0 处理桃蚜的单雌产蚜量和内禀增长率为各个饲料处理最高,pH = 7.2 处理次之,pH = 7.4 处理最低。统计分析结果显示,内禀增长率 pH = 7.0 与 pH = 7.2 处理之间、pH = 6.8 与 pH = 7.4 之间无显著差异,但前两者的内禀增长率要明显高于后两者;单雌产蚜量 pH = 7.0 处理与各个处理之间均存在显著差异,pH = 6.8 和 pH = 7.4 之间无显著差异。由此可间接的反映饲料 pH = 7.0 和 pH = 7.2 为较适宜的 pH 值,较高或较低均会对桃蚜的生长繁殖产生不利影响。

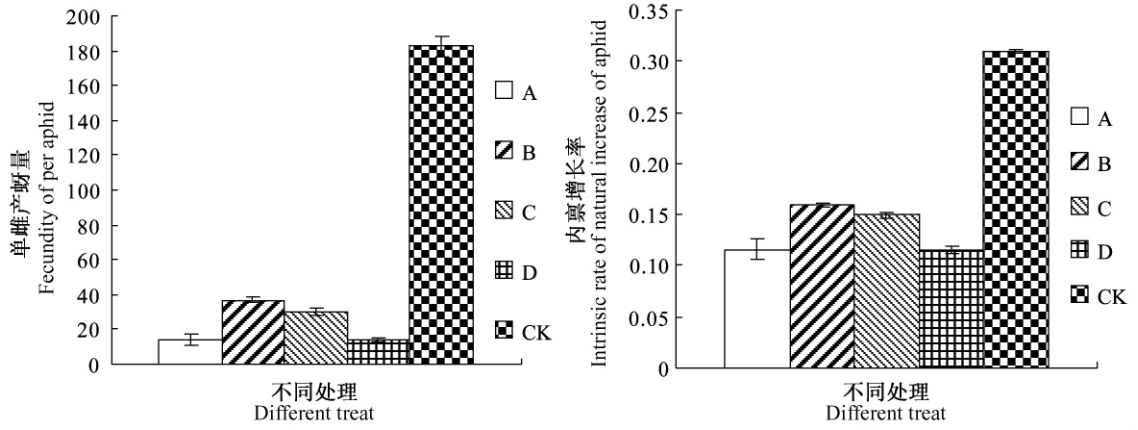


图 1　不同处理桃蚜的单雌产蚜量和内禀增长率

Fig. 1　The fecundity and intrinsic rate of natural increase of green peach aphid under different treatments

A:pH6.8 饲料处理　B:pH7.0 饲料处理 C:pH7.2 饲料处理　D:pH7.4 饲料处理　CK: 油菜处理

A: artificial diet of pH 6.8　B: artificial diet of pH 7.0　C: artificial diet of pH 7.2　D: artificial diet of pH 7.4　CK: the treatment of rape

2.3　pH 值对桃蚜体内保护酶活性的影响

2.3.1　超氧化物歧化酶(SOD)的变化　由表 2 数据可知,各处理的 SOD 活性变化趋势基本一致,先升高,而后下降,说明蚜虫在遇到逆境条件时,有一个自身生理功能调节的过程,最终实现机体平衡而适应新的生境。在人工饲料上饲养 6 h 后,各处理蚜虫的 SOD 活性均有所升高,说明桃蚜在取食人工饲料后,对虫体产生刺激,蚜虫调节生理功能以应对外界生境的变化。pH = 7.4 处理活性最高,与其他 3 处理和对照(油菜)均有显著差异,

而其他 3 处理与对照之间无显著差异，但人工饲料上的酶活性均高于对照。12 h 后，SOD 活性值继续升高，pH = 7.0、7.2 和 7.4 3 处理酶活性明显高于 pH = 6.8 处理和对照。24 h 左右，SOD 活性达到最大值，不同处理之间也存在显著差异，其中 pH = 6.8 处理的酶活性最高，pH = 7.4 处理次之。48 h 后，SOD 活性均有所降低，但各处理的酶活性仍显著高于对照。

表 2 人工饲料 pH 值对桃蚜 SOD 活性的影响(平均数 ± 标准误)

Table 2 Effects of pH value on the SOD activities of green peach aphid (mean ± *SE*)

	SOD 活性值(U/mg) SOD activities				
	pH6.8	pH7.0	pH7.2	pH7.4	油菜
6 h	12.39 ± 0.57 b	10.83 ± 1.048 b	10.58 ± 0.54 b	15.62 ± 1.4 a	10.50 ± 0.14 b
12 h	12.63 ± 0.70 b	16.36 ± 0.64 a	16.25 ± 0.63 a	17.33 ± 0.84 a	10.29 ± 0.07 c
24 h	37.43 ± 1.45 a	27.88 ± 1.047 c	25.26 ± 0.88 c	33.63 ± 1.1 b	10.48 ± 0.11 d
48 h	17.11 ± 0.24 b	17.80 ± 0.133 b	12.96 ± 0.39 c	19.46 ± 0.47 a	10.38 ± 0.13 d

2.3.2 过氧化氢酶(CAT)活性的变化 由表 3 可知，各处理的 CAT 活性变化与 SOD 活性变化趋势基本一致。6 h 后，桃蚜的 CAT 活性均有所升高，但 pH = 7.2 和 pH = 7.4 处理上升的较明显，显著高于与其他两处理和对照，可能是此 pH 值饲料对虫体的刺激较强烈，导致 CAT 活性变化较大。12 h 后，pH = 6.8 和 pH = 7.0 处理的酶活性继续升高。24 h 左右，各处理的酶活性值达到最大值，pH = 6.8 处理酶活性最高，pH = 7.4 次之，pH = 7.2 最低，而且与对照无显著差异。48 h 后，各处理的 CAT 活性均有所降低，但均高于对照处理，其中 pH = 7.2 和 pH = 7.0 2 处理与对照处理在统计分析上无显著差异。

表 3 人工饲料 pH 值对桃蚜 CAT 活性的影响(平均数 ± 标准误)

Table 3 Effects of pH value on the CAT activities of green peach aphid (mean ± *SE*)

	CAT 活性值(U/g) CAT activities				
	pH6.8	pH7.0	pH7.2	pH7.4	油菜
6 h	71.22 ± 2.63 b	68.94 ± 2.37 b	85.23 ± 2.38 a	89.71 ± 3.60 a	66.56 ± 0.61 b
12 h	78.10 ± 1.46 a	70.80 ± 4.73 ab	68.70 ± 2.53 b	75.90 ± 1.62 ab	70.32 ± 1.17 ab
24 h	102.73 ± 4.09 a	86.50 ± 3.48 b	75.80 ± 3.21 c	92.96 ± 3.76 ab	66.06 ± 0.20 c
48 h	80.42 ± 3.23 a	73.10 ± 0.83 ab	72.78 ± 2.55 ab	77.12 ± 4.54 a	66.75 ± 0.85 b

昆虫体内抗氧化酶活性的高低及变化幅度是生境对昆虫适合与否的生理指标。由表 2，3 可知，将桃蚜转移至人工饲料上，桃蚜的 SOD 和 CAT 的活性即开始明显升高，而且 SOD 活性的变化幅度要明显高于 CAT 活性的变化，说明在桃蚜吸收饲料以后，体内可能产生较多的超氧阴离子自由基，需要提高 SOD 的活性来清除，避免对虫体产生危害。而且在测试的 48 h 内，2 种保护性酶活性的变化趋势基本一致，而 pH = 7.2 和 pH = 7.0 处理的 SOD 和 CAT 活性的变化幅度较小，而且与天然寄主的酶活性值差异较小。结合存活率、繁殖率以及保护酶活性的变化，综合分析认为 pH7.0 是桃蚜饲料的较合适的 pH 值。

3 讨论

由于饲料 pH 值的差异，会直接或间接影响昆虫对营养物质的消化和吸收，进而影响到昆虫的生长发育。以不同 pH 值饲料饲养棉蚜，棉蚜的存活率、繁殖率和体重均存在显著的差异(Auclair，1967)。取食不同 pH 值的饲料，家蚕 *Bombyx mori* (Linnaeus)需要调整自身的碳酸盐、磷酸盐、蛋白质和氨基酸等缓冲体系，来平衡中肠的 pH 值，消耗大量的能量；同时影响家蚕对食物的取食量和消化量，最终影响到蚕的生长量和发育速度(黄建

辉 等, 1997)。橘小食蝇 *Bactrocera dorsalis* (Hendel)幼虫对饲料的酸度较为敏感,pH 值直接影响幼虫对营养物质的吸收与利用,而且对橘小实蝇的蛹重、成虫羽化率和产卵量也有显著影响(任真真等,2008)。在人工饲料的开发过程中,饲料 pH 值是决定饲料适合性的关键因子,是饲料开发与配制需要优先解决的问题,而后才是进行饲料营养成分的改进。

昆虫的存活率和繁殖率是饲料适合性最直接、最直观的表现。水质 pH 的不同(殷旭旺和牛翠娟,2009)、寄主植物种类(庞保平等,2004;郭小奇等,2008)或品种(吴福安等,2006;王森山等,2008)的不同均会影响生物的生长发育和繁殖,其中内禀增长率可以灵敏地反映出环境条件的细微变化;抗氧化酶是生物体内一类重要保护酶系(Wei *et al.*,2007),其中许多酶量和质的变化是生物适应逆境的主要原因之一(李军等,2005),也可作为饲料等食料对昆虫适合与否的指标。许多研究表明,昆虫在环境和食料不适(Li *et al.*,2009)、喷施农药(杨贵军等,2007)、水分缺乏以及人为照射紫外线(李军等,2005)等不良环境中,其体内的酶活性等生理功能会发生某些改变。生物遇到逆境条件,体内的超氧阴离子自由基(O_2^-)、过氧化氢(H_2O_2)和氢氧自由基(HO·)等活性氧含量会显著增加,对许多生物分子产生破坏作用,如导致膜脂过氧化、膜的通透性丧失等(李周直等,1994; Everekliogl u *et al.*,2003;史冬燕,2009)。但正常条件下,生物体内存在着自由基清除系统,如 SOD,CAT 和 POD 等抗氧化酶体系,SOD 能够清除超氧阴离子自由基(O_2^-),形成 H_2O_2,CAT 和 POD 再将 H_2O_2 分解为 H_2O 和 O_2,使得这些自由基的含量保持在较低、对生物体无害的水平,从而防止自由基毒害,不会对生物体的机能产生影响(Mansour *et al.*,2002; Kuzniak *et al.*,2006; Wei *et al.*,2007;区焯林等,2009)。

从试验结果来看,饲料 pH 值为 7.0 的处理桃蚜的存活率和内禀增长率最高,是桃蚜较适合的饲料 pH 值;不同处理桃蚜 SOD 和 CAT 活性的变化进一步验证了这一结论。本试验直接证明了抗氧化酶参与桃蚜对生境改变后适应的过程,并且起着至关重要的作用,而且不同的保护酶可能起到的作用及效果也不尽一致。保护酶活性的改变对桃蚜生物学习性及其它生理功能是否有影响,乃至分子生物学方面的潜在影响尚需试验来进一步论证。

参考文献(References)

Auclair JL, 1967. Effeces of pH and sucrose on rearing the cotton aphid, *Aphis gossypii*, on a germ-free and holidic diet. *J. Insect Physiol.*, 13: 431—446.

蔡英卿,赖钟雄,沈金山,陈义挺,李国清,林玉玲,郑文炉, 2006. 余甘子各器官超氧化物歧化酶活性的测定. 热带作物学报, 27(4): 29—33.

陈巨莲,倪汉祥,丁红建,孙京瑞,2000. 麦长管蚜全纯人工饲料的研究. 中国农业科学, 33(3): 54—59.

Everekliogl u C, Er H, Doganay S, Cekmen M, Turkoz Y, Otlu B, Ozerol E, 2003. Nitric oxide and lipid peroxidation are increased and associated with decreased antioxidant enzyme activities in patients with age-related macular degeneration. *Documenta Ophthalmologica*, 106: 129—136.

郭小奇,付晓伟,封洪强,邱峰,郭线茹,2008. 不同寄主对中黑盲蝽(*Adelphocoris suturalis*)生长发育和繁殖的影响. 生态学报, 28(4): 1514—1520.

黄健辉,徐俊良,吕顺霖,缪云根,1997. 家蚕(*Bombyx mori*)不同发育阶段饲料适宜 pH 值的研究. 浙江农业大学学报, 23(2): 179—183.

纠敏,刘树生,2004. 利用人工饲料饲养蚜虫的技术. 华东昆虫学报, 13(2): 102—109.

柯礼道,钦俊德,1983. 以化学纯饲料饲养北京的桃蚜. 昆虫学报, 26(1): 17—23.

Kuzniak E, Wyrwicka A, Gabara B, Kozirog A, Sklodowska M, 2006. Effects of N, N-Bis (3-aminopropyl) dodecylamine on antioxidant enzyme activities, mitochondrial morphology and metabolism in *Aspergillus niger*. *Folia Microbiol.*, 51(1): 38—44.

李彩霞,高丽锋,高玲玲,李润植,1997. 全纯人工营养液饲养蚜虫的研究. 山西农业大学学报, 17(3): 225—228.

李军,赵惠燕,赵学达,2005. 不同强度紫外线对蚜虫生态学特征及有关酶活性的影响. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 33(4): 61—64.

李丽莉,王振营,何康来,白树雄,花蕾,2007. 转 Bt 基因抗虫玉米对玉米蚜种群增长的影响. 应用生态学报, 18(5): 1077—1080.

Li Y, Song YP, Shi GJ, Wang JJ, Hou XL, 2009. Response of antioxidant activity to excess copper in two cultivars of *Brassica campestris* ssp. *chinensis* Makino. *Acta Physiol. Plant*, 31: 155—162.

李周直,沈慧娟,蒋巧根,嵇保中,1994. 几种昆虫体内保护

酶系统活力的研究. 昆虫学报, 37(4): 399—403.

Mansour MA, Nagi MN, El-Khatib AS, Al-Bekairi AM, 2002. Efeects of thymoquinone on antioxidant enzyme activities, lipid perodxidation and DT-diaphorase in different tissues of mice: a possible mechanism of action. *Cell Biochem. Funct.*, 20: 143—151.

Mittler TE, 1971. Dietary amino acid requirements of the aphid *Myzus persicae* affected by antibiotic uptake. *J. Nutrition*, 101: 1023—1028.

庞保平,周晓榕,史丽,穆洪波,2004. 不同寄主植物对截形叶螨生长发育及繁殖的影响. 昆虫学报, 47 (1): 55—58.

Parry WH, Ford JB, 1967. The artificial feeding of phosphamidon to *Myzus persicae*: I. Intraspecific differences exhibited by this aphid on feeding through a parafilm membrane. *Ent. Exp. Appl.*, 10: 437—452.

区焯林,喻敏,王灼明,2009. 硼、钼、硅对草坪草海滨雀稗 CAT 和 POD 活性的影响. 韶关学院学报. 自然科学, 30 (6): 57—60.

任真真,季清娥,陈家骅,2008. 橘小实蝇幼虫液体人工饲料中 pH 值对其生长发育的影响. 华东昆虫学报, 17 (1): 17—21.

史冬燕,2009. 低温胁迫对拟南芥 G 蛋白突变体 SOD、POD 酶活性和丙二醛含量的影响. 贵州大学学报(自然科学版), 26(2): 14—16.

王森山,许永霞,曹致中,师尚礼,贺春贵,2008. 苜蓿品种(系)对苜蓿斑蚜存活率和生殖力的影响. 昆虫学报, 51 (7): 774—777.

Wei R, Zhang SC, Wang CF, Pang QX, 2007. Antioxidant enzyme activities in different genders and tissues of amphioxus *Branchiostoma belcheri tsingtauense*. *Chin. J. Oceanol. Limnol.*, 25(1): 73—77.

吴福安,周金星,余茂德,王茜龄,徐立,鲁成,敬成俊, 2006. 不同桑树品种上朱砂叶螨实验种群内禀增长率的统计推断. 昆虫学报, 49(2): 287—294.

杨贵军,吴涛,杨乐,王怡,2007. 狼毒提取物对枸杞蚜虫的生物活性及其体内酶活性的影响. 四川动物, 26(1): 8—11.

殷旭旺,牛翠娟,2009. pH 对 5 种臂尾轮虫后代存活率和混交雌体率及种群内禀增长率的影响. 水生生物学报, 33(2): 342—347.

周强,曹春艳,2001. 血清过氧化氢酶的比色测定. 哈尔滨医科大学学报, 35(6): 473—474.