

辐射后桃小食心虫酯酶同工酶的变异

宋继学

(陕西省植物保护研究所 杨陵712100)

摘要 用聚丙烯酰胺凝胶电泳测定了用 ^{60}Co γ 射线辐射的桃小食心虫的酯酶同工酶。30、50kR辐射的蛹及其羽化成虫的酯酶谱发生了变化,酶带数、酶含量和酶活性有明显差异。♂蛹有酯酶I、II、III、IV带,♂成虫有酯酶I、II带;♀蛹有酯酶I、II、IV带,♀成虫有酯酶I、II、III、IV带。而且显色深浅和光密度各不相同。桃小食心虫不同性别的酯酶谱不同,♂蛹显示4条酶带,♀蛹则显示3条酶带;♂成虫显示2条酶带,♀成虫则显示4条酶带,且显色程度和光密度也不同。

关键词 桃小食心虫;酯酶同工酶;聚丙烯酰胺凝胶电泳;辐射不育

桃小食心虫 *carposina nipponensis* 是苹果最重要的害虫之一。用 ^{60}Co γ 射线50、30 kR 辐射后期蛹,可导致成虫完全不育和部分不育^[1],但不育机理尚不尽知。由于同工酶可作为基因功能的良好标志物^[2],可以用它作为遗传标志来反映自然种群的基因结构的变化和种内、种间的亲缘关系^[3],因此,近年来同工酶电泳技术在昆虫学研究中已成为一种有用的工具而被应用^[4,5]。为了从遗传上和生化上探讨 γ 射线诱发桃小食心虫不育的某些原因,本实验对辐射蛹及其羽化成虫的酯酶同工酶进行了电泳分析。

1 材料和方法

实验虫源来自河南新郑县。在 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 、光照周期(14.5~15.0:9.0~9.5)、RH70±12.8%的实验室条件下饲养。辐射源为 ^{60}Co γ 射线,照射量率为125.5~131.6R/min。在中国农科院原子能利用研究所钴源室照射。

用30、50 kR辐射发育一致的9日龄蛹,将辐射的蛹及羽化的成虫(12 h龄)分性别各取15头(成虫剪去翅、足和触角);以同龄期未辐射的蛹和成虫为对照,加数滴提取液(0.05 mol Tris-HCl 缓冲液, pH6.5~7.0, 含0.25% Triton X-100)于冰浴中研磨匀浆,然后转移至1.5 ml的塑料离心管中,4℃下离心10 min (4000 r/min),取上清液为样品,分装保存于冰箱中(0℃~4℃)备用。

样品进行薄层(0.5mm)聚丙烯酰胺凝胶等电聚焦电泳。电泳在0℃~4℃冰箱中进行。电泳1 h后取出点样,在胶板表面距负极1/3处切开小口,用微量点样器注入样品液,每样品80 μl ,再继续电泳4 h。电泳结束后,用精密pH试纸测定凝胶pH值。然后进行酯酶染色和固定。

* 本实验在中国农科院原子能利用研究所进行。承蒙张和琴、李元英、唐秀芝先生指导,胡朝晖、王应伦参加部分工作,特此致谢。

方法是：竖牢固蓝 RR 盐染料 250 mg，溶于 250 ml 0.1 mol 磷酸缓冲液 (pH5.5)，加入用 70% 乙醇溶解的 1% α -乙酸萘酯 3.75 ml 和 2% β -乙酸萘酯 6 ml 配成染色溶液，将凝胶板置于染色液中，20 C 恒温下经 30 min 即显示黑褐色酯酶区带。用蒸馏水冲洗胶板数次，置于 70% 乙酸溶液中固定 5 h。用 Hitachi 557 型分光光度计扫描，对酯酶同工酶作酶活性和光密度分析。

2 结果与分析

未经辐射的对照蛹和成虫的酯酶谱可视为标准酶谱。为便于分析，结合扫描可将桃小食心虫酯酶同工酶谱区分为 4 组区带：酯酶 I、II、III、IV（正板方向迁移率最小的为 I，余类推）。酶谱显示，桃小食心虫后期蛹（9 d 龄）和初羽化成虫（12 h 龄）的正极酯酶同工酶迁移率基本一致，4 组区带均位于 pH6.0~8.0 之间。对各处理的比较分析结果表明：① 桃小食心虫不同性别、不同发育阶段的酯酶同工酶谱不同。对照 ♂ 蛹显示酯酶 I、II、III、IV，色浅而细，密度 0.45；同龄期 ♀ 蛹则只有酯酶 I、II、IV，无酯酶 III，其中 I、II 是两条粗深带，在酶谱中很显著，密度 0.97（图 1）。对照 ♂ 成虫仅有酯酶 I、II 带，III、IV 带消失，显色和光密度（0.42）最低；同龄期 ♀ 成虫显示出 4 组完整的区带，其中酯酶 III 显色较深，其余显色均较浅，密度 0.50（图 2）。这些结果不仅说明了酶活性的不同，而且也表明酯酶构型的差异。似乎可以推论，桃小食心虫不同性别、不同发育阶段的酯酶同工酶是由不同的显性等位基因控制的，因而呈现出不同的电泳表型。② 不同辐射剂量对同一性别的酯酶同工酶影响不同。30 kR 辐射的 ♂ 蛹显示出 4 组完整的酯酶区带，酶带数与对照没有差异，但显色粗深，密度 0.73，均明显高于对照，说明其酶活性提高，含量增加；50 kR 辐射的 ♂ 蛹酯酶 II 消失，酯酶 III、IV 显色深粗，密度 0.78，均高于对照和 30 kR 辐射的 ♂ 蛹（图 1），说明其酶活性和含量提高而且酶带数有变化。这一结果表明，在 30~50 kR 剂量范围内，剂量越高，对酯酶同工酶的影响越显著。③ 相同剂量对不同性别的酯酶同工酶影响也不相同。就蛹期而言，辐射 ♂ 蛹的酶活性提高，含量增加，显色和密度都高于对照，而辐射 ♀ 蛹的酶活性则受到抑制，

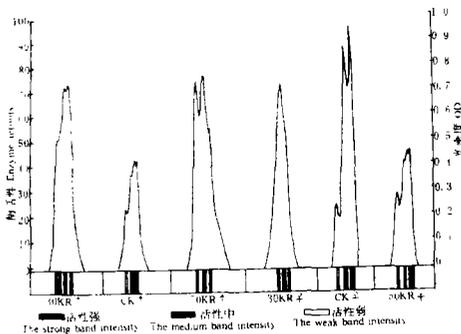


图 1 桃小食心虫后期蛹酯酶同工酶电泳及扫描图谱

Fig 1 Esterase zymograms and scanning graph of pupae of *Carposina nipponensis*

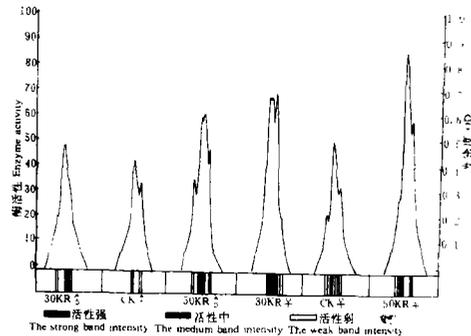


图 2 桃小食心虫初羽化成虫酯酶同工酶电泳和扫描酶谱

Fig2 Esterase zymograms and scanning graph of adults of *carposina nipponensis*

显色和光密度都低于对照（图 1）。辐射蛹发育到成虫阶段以后，出现了明显的变化，♂ 成虫的酶活性明显低于 ♂ 蛹，几乎接近对照；♀ 成虫则相反，酶活性明显高于 ♀ 蛹，显色和光密度也高于对照（图 2）。这说明不同性别的酯酶同工酶对辐射的敏感性不同，同一剂量在不同性别

中诱发的酯酶同工酶变异也不相同。

3 讨论与小结

桃小食心虫不同性别在不同发育阶段的酯酶同工酶谱不同,说明酯酶同工酶可能与发育有关。由于蛹和成虫的酯酶同工酶本身存在着某些差异,因而9日龄蛹经辐射后,在辐射蛹发育为成虫的变化过程中,其酯酶同工酶构型也发生了某些变化,表现为辐射蛹及其羽化成虫酯酶同工酶谱的差异。

相同剂量在不同性别中诱发的酯酶同工酶电泳表型不同。在♂蛹中表现为对酯酶的激活,在♀蛹中则表现为抑制现象。在辐射蛹羽化的成虫中表现则相反,♂成虫酶活性明显下降,♀成虫酶活性则显著提高。这可能是由于控制不同性别酯酶同工酶的共显性等位基因不同所致。

不同剂量在同一性别中诱发的酯酶同工酶电泳表型也不相同。主要表现在酶带数和酶活性的不同上。30 kR 辐射♂蛹的酶带数与对照虽无差异,但酶活性明显提高;50 kR 辐射♂蛹的酶活性不仅显著提高,而且酶带数发生了变化。在♀蛹及羽化成虫中也表现出明显差异。说明不同辐射剂量对酯酶同工酶的影响不同,在一定的剂量范围内,辐射剂量越高,对酯酶的影响越显著。

上述这些变化现象的机制可能在于γ射线辐射诱发了控制桃小食心虫酯酶同工酶的某些显性等位基因发生了变异。因为γ射线辐射诱发桃小食心虫不育的直接原因是造成染色体着丝点的断裂或严重受损,因而有可能引起负载于染色体上的基因组型或控制酯酶同工酶的某些共显性等位基因的变异,使不同剂量处理的不同性别的蛹及其羽化成虫的电泳酶谱呈现出不同表型。

参 考 文 献

- 1 张和琴,宋继学. 桃小食心虫辐射不育的研究. 原子能农业应用, 1983; (2): 1~5
- 2 Matkert C L. 同工酶的生物学. 生物科学动态 (中译本), 1978; (6): 69~73
- 3 阎一林等. 棉铃虫和烟青虫的酯酶同工酶比较. 昆虫学报, 1987; 30 (3): 341~344
- 4 李绍文等. 蜜蜂酯酶同工酶的研究. 昆虫学报, 1985; 28 (4): 369~374
- 5 郝纪华等. 不同地区粘虫群体的同工酶变异. 昆虫学报, 1992; 35 (1): 33~39

ESTERASE ISOZYME VARIATION IN IRRADIATED PEACH FRUIT BORER, *CARPOSINA NIPPONENSIS*

Song Jixue

(Shaanxi Institute of plant protection, Yangling 712100)

ABSTRACT

The PAGE was used to determine the esterase isozyme variation on the pupae and adults of peach fruit borer (*Carposina nipponensis*) radiated with γ-ray. After the pupae and adults were radiated with 30 and 50 kR γ-ray, their esterase isozyme zymogram was changed, and their isozyme band number, isozyme level and isozyme activity were different obviously. There are esterase isozyme band I, II, III and IV in male pupae, there are band I and III in male adults; there are band I, II and IV in female pupar, there are band I, II, III and IV in female adults. Further more, the shade and optical density of the bands have nothing in common with each other.

Key words *Carposina nipponensis*; Esterase isozyme; PAGE; Irradiating sterility