

滞育和滞育后越北腹露蝗卵中游离氨基酸的变化

刘 婷, 吴伟坚

(华南农业大学 昆虫生态研究室, 广东 广州 510642)

摘要:利用氨基酸自动分析仪对滞育和滞育后越北腹露蝗卵血淋巴中的游离氨基酸进行分析. 结果表明, 共发现31种游离氨基酸. 滞育解除后游离氨基酸总含量增加, 但精氨酸、鸟氨酸、 γ -氨基丁酸、胱硫醚和瓜氨酸的含量却显著下降, 比滞育期分别减少88.99%、76.15%、78.15%、100.00%和100.00%. 游离氨基酸总含量的增加可能是用于合成胚胎发育所需的蛋白质; 而精氨酸、鸟氨酸、 γ -氨基丁酸、胱硫醚、瓜氨酸含量的下降意味着滞育即将解除. 滞育期间, 精氨酸、鸟氨酸、丝氨酸、脯氨酸、赖氨酸、丙氨酸、缬氨酸保持着较高的含量, 说明这些氨基酸可能是重要的耐寒物质. 与多数滞育昆虫不同的是, 精氨酸在滞育期含量最高, 脯氨酸在滞育后的胚胎发育期含量最高, 表明具有专性滞育特性的越北腹露蝗有着自己独特的氨基酸代谢机制.

关键词:越北腹露蝗; 卵; 滞育; 游离氨基酸

中图分类号: S168; Q956

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X(2008)01-0035-04

Changes in the Free Amino Acids of the Diapause and Postdiapause Egg of *Fruhstorferiola tonkinensis* (Orthoptera: Catantopidae)

LIU Ting, WU Wei-jian

(Lab of Insect Ecology, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: The free amino acids in the haemolymph of diapause and postdiapause egg of the grasshopper, *Fruhstorferiola tonkinensis*, were investigated by an automatic amino-acid analyzer. Thirty-one amino acids were detected in the haemolymph of two studied stages. The postdiapause of the grasshopper resulted in an increase in content and kinds of free amino acids except arginine (–88.99%), ornithine (–76.15%), γ -amino-n-butyric acid (–78.15%), cystathionine (–100.00%) and citrulline (–100.00%), which indicated that the postdiapause eggs had significantly elevated essential amino acid content related to protein synthesis for embryonic development and decreased arginine, ornithine, γ -Amino-n-butyric acid, cystathionine and citrulline to terminate diapause. Arginine, ornithine, serine, proline, lysine, alanine and valine remaining high contents during the diapause duration may be the main antifreezes for the overwintering eggs of the grasshopper. Compared to other diapause insects, however, the contents of arginine and proline of the diapause and postdiapause egg of grasshopper were the highest respectively, and indicated that the grasshopper had its special metabolism of amino acids for its diapause.

Key words: *Fruhstorferiola tonkinensis*; egg; diapause; free amino acids

滞育是昆虫与大自然之间经过千万年的抗争、妥协与适应后形成的一种奇特的生命现象, 是昆虫逃避不良环境威胁, 维持种群生存和繁衍的一种有效策略^[1]. 越北腹露蝗 *Fruhstorferiola tonkinensis* Will. 是粤北地区的主要害虫之一, 已对粤北河滩的桑田造成了严重危害. 目前的研究表明, 越北腹露蝗1年发生1代, 具有专性滞育的特性, 低温是解除滞

育的必要条件. 滞育卵产下后需经历长达6个月左右的滞育期后才开始发育, 滞育期卵的含水量、鲜质量和耗氧量均维持在较低的水平, 当胚胎开始萌动时, 含水量、鲜质量和耗氧量便迅速上升, 并且随着胚胎发育而逐步增加, 整个胚胎发育历期仅为23~26 d^[2]. 滞育是一个复杂的过程, 必定有着复杂的物质代谢和能量代谢机制^[3]. 游离氨基酸 (free amino

收稿日期: 2007-01-23

作者简介: 刘 婷 (1981—), 女, 硕士研究生; 通讯作者: 吴伟坚 (1962—), 男, 教授, E-mail: weijwu@scau.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金 (30671373); 广东省蝗虫防治经费 (粤财农 0350; 05358)

acids,FAAs)作为合成蛋白质的必需物质,存在于昆虫的血淋巴中,是构建昆虫生命活动的重要生化物质.对巨头蚱 *Aulocara ellioti* 的研究表明,蝗卵内游离氨基酸的含量从滞育前期到滞育期明显增加,到滞育后期又下降,其中有4种氨基酸一直存在,有5种氨基酸只存在于特定的时期^[4].本文对滞育和滞育后越北腹露蝗卵中游离氨基酸的变化进行了研究,为进一步揭示昆虫滞育机制以及为害蝗防治提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 供试卵

从广东省连州市一河滩采集越北腹露蝗卵块,按照其野外深度(土层下2~3 cm)埋在盛有该河滩砂土的储物箱中,于华南农业大学昆虫生态研究室内存.根据含水量确定蝗卵的发育进程,分别对滞

育期和胚胎发育期的游离氨基酸含量进行测定.

1.2 游离氨基酸的定量测定

从不同的卵块中取出卵粒若干,用清水反复冲洗后放在空气中干燥.称取0.5 g卵,研磨匀浆后加入 $w=6\%$ 的磺基水杨酸,混匀,静置1 h,取上清液,加入 $0.02 \text{ mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ 盐酸和 $\varphi=1\%$ 的乙二胺四乙酸(ethylenediamine tetraacetic acid,EDTA),摇匀后取混合液以 $15\,000 \text{ r/min}$ 离心15 min,取上清液,用日立L-8800氨基酸全自动分析仪测定.

采用2个独立样本的 t 检验对2个发育阶段氨基酸含量的变化进行分析.

2 结果与分析

越北腹露蝗卵在滞育期和胚胎发育期的游离氨基酸含量变化如表1所示.

表1 滞育和滞育后越北腹露蝗卵内游离氨基酸含量

Tab.1 Free amino acids present in the haemolymph in the diapause and postdiapause egg of *F. tonkinensis*

游离氨基酸 free amino acids	$w^1)/(\text{ng} \cdot \text{mg}^{-1})$		滞育后比滞育期增减 increase or decrease in contrast to diapause/%
	滞育期 diapause	滞育后 postdiapause	
精氨酸 Arg	5.024 8 ± 0.990 5a	0.553 2 ± 0.017 9b	-88.99
丝氨酸 Ser	0.299 8 ± 0.062 0a	0.227 3 ± 0.012 2a	-24.18
鸟氨酸 Orn	0.283 8 ± 0.045 2a	0.067 7 ± 0.001 8b	-76.15
γ -氨基丁酸 γ -ABA	0.060 4 ± 0.004 7a	0.013 2 ± 0.000 1b	-78.15
胱硫醚 Cysthi	0.031 6 ± 0.005 3a	0.000 0 ± 0.000 0b	-100.00
瓜氨酸 Cit	0.005 8 ± 0.000 3a	0.000 0 ± 0.000 0b	-100.00
脯氨酸 Pro	0.566 0 ± 0.162 5a	2.265 9 ± 0.084 8b	+300.34
赖氨酸 Lys	0.448 6 ± 0.085 6a	0.937 5 ± 0.036 3b	+108.99
丙氨酸 Ala	0.197 7 ± 0.022 8a	0.715 6 ± 0.019 1b	+261.96
缬氨酸 Val	0.190 5 ± 0.039 6a	0.632 3 ± 0.026 2b	+231.91
酪氨酸 Tyr	0.163 3 ± 0.059 8a	1.124 5 ± 0.054 0b	+588.61
脲 Urea	0.000 0 ± 0.000 0a	0.794 5 ± 0.158 5b	+∞
天冬氨酸 Asp	0.140 6 ± 0.017 8a	0.412 7 ± 0.023 1b	+193.53
色氨酸 Try	0.118 6 ± 0.026 0a	0.523 2 ± 0.031 1b	+341.14
甘氨酸 Gly	0.115 9 ± 0.032 8a	0.416 6 ± 0.016 3b	+259.45
苏氨酸 Thr	0.100 2 ± 0.024 9a	0.389 8 ± 0.014 0b	+289.03
组氨酸 His	0.091 8 ± 0.007 3a	0.229 8 ± 0.009 1b	+150.32
羟基赖氨酸 Hylys	0.086 5 ± 0.020 3a	1.606 3 ± 0.055 8b	+1 756.99
苯丙氨酸 Phe	0.073 5 ± 0.022 8a	0.135 3 ± 0.006 0b	+84.09
亮氨酸 Leu	0.064 6 ± 0.013 5a	0.152 9 ± 0.006 9b	+136.69
异亮氨酸 Ile	0.062 2 ± 0.015 2a	0.081 3 ± 0.003 7a	+30.71
甲硫氨酸/蛋氨酸 Met	0.061 2 ± 0.014 7a	0.301 3 ± 0.011 2b	+392.32
磷酸丝氨酸 P-Ser	0.056 3 ± 0.014 4a	0.134 4 ± 0.009 8b	+138.73
磷酸乙醇胺 PEA	0.047 6 ± 0.015 0a	0.590 9 ± 0.025 6b	+1 141.38
β -丙氨酸 β -Ala	0.038 4 ± 0.010 8a	0.048 4 ± 0.007 3a	+26.05
牛磺酸 Tau	0.028 3 ± 0.002 8a	0.039 5 ± 0.001 8b	+39.58
谷氨酸 Glu	0.004 0 ± 0.000 7a	0.008 4 ± 0.000 4b	+110.00
α -氨基丁酸 α -ABA	0.000 0 ± 0.000 0a	0.069 6 ± 0.001 3b	+∞
β -氨基异丁酸 β -AiBA	0.000 0 ± 0.000 0a	0.069 3 ± 0.003 1b	+∞
肌肽 Car	0.000 0 ± 0.000 0a	0.118 1 ± 0.028 0b	+∞
3-甲基组氨酸 3-Mehis	0.003 0 ± 0.030 3a	0.011 4 ± 0.003 9a	+280.00
合计 total	8.365 0	12.670 9	

1) 同行数据后具相同字母者示差异不显著(t 检验, $P>0.05$)

由表1可以看出,从滞育期到滞育后的胚胎发育期,蝗卵中游离氨基酸的种类和含量都有所增加,总游离氨基酸由滞育期的 $8.365\ 0\ \text{ng} \cdot \text{mg}^{-1}$ 增加到滞育后的 $12.670\ 9\ \text{ng} \cdot \text{mg}^{-1}$ 。其中增加幅度较大,超过200%的FAAs有羟基赖氨酸(+1 756.99%)、磷酸乙醇胺(+141.38%)、甲硫氨酸/蛋氨酸(+392.32%)、3-甲基组氨酸(+280.00%)、酪氨酸(+588.61%)、色氨酸(+341.14%)、脯氨酸(+300.34%)、苏氨酸(+289.03%)、丙氨酸(+261.96%)、甘氨酸(+259.45%)和缬氨酸(+231.91%)。代谢产生了新的氨基酸,如脯、 α -氨基丁酸、 β -氨基异丁酸和肌肽。

然而,有5种氨基酸的含量在滞育解除后显著下降,如精氨酸(-88.99%)、鸟氨酸(-76.15%)、 γ -氨基丁酸(-78.15%)、胱硫醚(-100.00%)和瓜氨酸(-100.00%),表明这几种氨基酸与滞育解除有关,可能是滞育终止的信号。

滞育期精氨酸、鸟氨酸、丝氨酸、脯氨酸、赖氨酸、丙氨酸、缬氨酸质量分数较高($w \geq 0.19\ \text{ng} \cdot \text{mg}^{-1}$),说明这些氨基酸可能与蝗卵的越冬有关,是越冬期间蝗卵内的主要耐寒物质。精氨酸质量分数是滞育期最高的,为 $5.024\ 8\ \text{ng} \cdot \text{mg}^{-1}$,占总游离氨基酸含量的60.08%;脯氨酸质量分数是胚胎发育期最高的,为 $2.265\ 9\ \text{ng} \cdot \text{mg}^{-1}$,占总游离氨基酸含量的17.88%。丝氨酸,异亮氨酸, β -丙氨酸和牛磺酸在滞育解除前后没有明显变化。

3 讨论与结论

存在滞育现象的几种鳞翅目昆虫如棉铃虫 *Heliothis armigera*、烟夜蛾 *Helicoverpa assulta*、欧洲玉米螟 *Ostrinia nubilalis*、西南玉米螟 *Diatraea grandiosella* 和家蚕 *Bombyx mori* 等,滞育期间血淋巴中游离氨基酸含量是增加的,如脯氨酸、丙氨酸、丝氨酸、精氨酸等一般会维持在较高的水平^[5,9],但是其生理意义目前还不十分清楚,通常认为这些氨基酸的大量积累可以提高昆虫的耐寒性,并且为滞育后的蛋白质合成做好准备。脯氨酸是昆虫体内重要氨基酸,不仅具有保持昆虫体内水分的作用,而且还是某些昆虫飞行能源的主要来源,并且可以为其他蛋白质的合成提供能量^[10-12]。丙氨酸是与无氧代谢有关的氨基酸,在对家蚕滞育卵的研究中发现,丙氨酸随着滞育卵中耗氧量的降低而显著增加,供氧后这种积累则被抑制^[9-13]。滞育期丝氨酸的积累可能与滞育后期尿酸的合成有关,因为丝氨酸所有的碳原子都可以用于尿酸的合成^[14]。

与鳞翅目昆虫不同的是,越北腹露蝗滞育卵中精氨酸含量最高,脯氨酸以及无氧代谢有关的丙

氨酸反而在滞育后大幅增加。巨头蚱滞育卵中的14种游离氨基酸含量从滞育前期到滞育期大量积累,滞育解除后又开始下降^[4]。而越北腹露蝗恰好相反,大部分游离氨基酸含量在滞育解除后增加。这一结果表明具有专性滞育特性的越北腹露蝗可能有着自己独特的氨基酸代谢机制。

越北腹露蝗滞育卵中有5种氨基酸(精氨酸、鸟氨酸、 γ -氨基丁酸、胱硫醚和瓜氨酸)的含量在滞育解除以后明显下降,说明这几种氨基酸在滞育过程中扮演了重要的角色,其含量的大幅度下降可能正预示着滞育即将解除,胚胎要开始发育。

另外,滞育期精氨酸、鸟氨酸、丝氨酸、脯氨酸、赖氨酸、丙氨酸、缬氨酸的质量分数维持在较高水平($w \geq 0.19\ \text{ng} \cdot \text{mg}^{-1}$),这可能是因为蝗卵在滞育期要经历一段低温(越冬),这些氨基酸的积累可以提高蝗卵的耐寒性,是越冬期间蝗卵内的主要耐寒物质^[15]。

越北腹露蝗不同于其他以卵滞育的蝗虫,它产下的便是滞育卵,而且初孵蝗蚱是在卵中完成发育的,所以胚胎期游离氨基酸的大量积累可能正是用来合成发育所需的蛋白质。大多数昆虫暴露在低温下体内都会产生丙氨酸^[16],这与在低温下呼吸速率降低,耗氧量下降发生无氧代谢有关。

越北腹露蝗卵中的丙氨酸含量在滞育解除后反而显著增加,这可能是因为解除滞育后,胚胎发育需要更多的氧提供能量,而由于卵壳的束缚,实际的耗氧量远远不能满足需求,所以丙氨酸的含量会相对增加。

胚胎发育期产生了尿素(urea),说明这一时期开始了氮素代谢,这一过程可能由精氨酸参与完成。精氨酸是以尿素为主要氮素代谢类型昆虫中的重要氨基酸,如在家蚕的蛹和成虫体内,精氨酸通过鸟氨酸循环重新生成精氨酸并合成尿素,完成氮素代谢。另外,精氨酸可以转化为脯氨酸,而脯氨酸含量的增加往往意味着有翅个体的生成^[17],所以在越北腹露蝗胚胎发育期脯氨酸的含量会增加。

在其他滞育解除后含量增加的氨基酸中,色氨酸可能参与了眼色素的合成;酪氨酸则是表皮鞣化剂的前体物;*L*-谷氨酸是神经肌肉联结点的化学递质;而消失的瓜氨酸可能是用于精氨酸的合成,参与滞育后期尿素的代谢。

参考文献:

- [1] 徐卫华. 昆虫滞育的研究进展[J]. 昆虫学报, 1999, 42(1): 100-107.
- [2] 陈伟,陈伟洲,吴伟坚,等. 越北腹露蝗胚胎发育的研究[J]. 华南农业大学学报, 2005, 26(4): 30-34.

- [3] 赵章武,黄永平. 昆虫滞育及其调控机制[J]. 山西大学学报:自然科学版, 1995, 18(1): 105-118.
- [4] BUNDEB D E, PEPPER J H. Biosynthesis and occurrence of free amino acids in eggs of the grasshopper, *Aulocara elioti*[J]. J Insect Physiol, 1968, 14(11): 1635-1649.
- [5] MORGAN T D, CHIPPENDALE G M. Free amino acids of the haemolymph of the southwestern corn borer and the European corn borer in relation to their diapause[J]. J Insect Physiol, 1983, 29(10): 735-740.
- [6] BOCTOR I Z. Changes in the free amino acids of the haemolymph of diapause and non-diapause pupae of the cotton bollworm, *Heliothis armigera* Hbn. (Lepidoptera: Noctuidae)[J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 1981, 37(2): 125-126.
- [7] GOTO M, FUJII M, SUZUKI K, et al. Factors affecting carbohydrate and free amino acid content in overwintering larvae of *Enosima leucotaeniella* [J]. J Insect Physiol, 1998, 44(1): 87-94.
- [8] TURUNEN S, CHIPPENDALE G M. Protein of the fat body of non-diapausing and diapausing larvae of the southwestern corn borer, *Diatraea grandiosella*, effect of juvenile hormone[J]. J Insect Physiol, 1980, 26: 163-169.
- [9] HARUYUKI S, YOSHIO O. Studies on the embryonic diapause of the pnd mutant of the silkworm, *Bombyx mori*: III. Accumulation of alanine in the diapause eggs[J]. Development Genes and Evolution, 1984, 193(6): 414-417.
- [10] 苏天运, 苏天增. 昆虫滞育生化机制研究概况: 上[J]. 四川动物, 1995, 14(3): 113-116.
- [11] 苏天运, 苏天增. 昆虫滞育生化机制研究概况: 下[J]. 四川动物, 1995, 14(4): 166-169.
- [12] 王萌长. 昆虫生物化学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001, 92-96.
- [13] MINORU O, YUMIKO Y. Changes in amino acid pools in the silkworm, *Bombyx mori*, during embryonic life: Alanine accumulation and its conversion to proline during diapause [J]. Insect Biochemistry, 1986, 16(2): 373-379.
- [14] MORGAN T D, CHIPPENDALE G M. Free amino acids of the haemolymph of the southwestern corn borer in relation to their diapause [J]. J Insect Physiol, 1983, 29: 735-743.
- [15] 韩瑞东, 孙绪良, 许永玉, 等. 赤松毛虫越冬幼虫生化物质变化与抗寒性的关系[J]. 生态学报, 2005, 25(6): 1352-1356.
- [16] GOTO M, YUTAKA S, HITOSHI O, et al. Relationships between cold hardiness and diapause, and between glycerol and free amino acid contents in overwintering larvae of the oriental corn borer, *Ostrinia furnacalis* [J]. J Insect Physiol, 2001, 47: 157-165.
- [17] RAGHUPATHI S, REDDY R, CAMPBELL J W. Arginine Metabolism in Insects [J]. Biochemistry Journal, 1969, 115: 495-503.

【责任编辑 周志红】

(上接第34页)

虫密度调查提供了理论依据. 关于香蕉弄蝶生物学、生态学、种群动态规律及控制策略与技术等目前还了解甚少, 尚需进一步深入研究.

参考文献:

- [1] 张维球. 农业昆虫学[M]. 北京: 农业出版社, 1981: 884.
- [2] 黄秉智. 香蕉优质高产栽培[M]. 北京: 金盾出版社, 1997.
- [3] 陆永跃, 曾玲, 梁广文. 香蕉害虫综合治理研究进展[J]. 武夷科学, 2002, 18: 276-279.
- [4] 杨政海, 杨章仁. 清水江流域香蕉弄蝶发生及为害初步研究[J]. 贵州农业科学, 1995(5): 51-52.
- [5] 张永强, AHMED D A, 韦绥概, 等. 香蕉园害虫和捕食性节肢动物群落结构及动态研究[J]. 生态学报, 2001, 21(4): 639-645.
- [6] 周汉辉, 张润杰. 新蕉园的昆虫种类及发展趋势[J]. 昆虫天敌, 1995, 17(1): 37-41.
- [7] 陆永跃, 方楚明, 沈叔平, 等. 香蕉弄蝶卵的空间分布格局研究[J]. 仲恺农业技术学院学报, 2003, 16(4): 17-20.
- [8] 陆永跃, 梁广文, 沈叔平, 等. 香蕉弄蝶着卵株率和卵量关系模型的建立与应用[J]. 昆虫知识, 2003, 40(6): 523-525.
- [9] 陆永跃, 梁广文. 香蕉弄蝶幼虫的为害量模型研究[J]. 武夷科学, 2002, 18: 108-111.
- [10] LU Yong-yue, LIANG Guang-wen, SHEN Shu-ping. Species of the parasitoids and their control on the banana skipper *Erionota torus* Evans [C] // Proceedings of the 15th international plant protection congress. Beijing: Foreign Languages Press, 2004: 575.

【责任编辑 周志红】