

【论著摘要】

文章编号:1000-7423(2001)-5-0320-01

三带喙库蚊和淡色库蚊  
胸肌线粒体琥珀酸脱氢酶比活力测定

张恩英 王仁贵

Q96 B

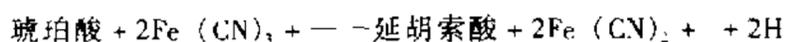
昆虫的飞行肌最大特点是线粒体非常丰富,约占肌细胞的40%,而且,内嵴极为密集。刘树森<sup>[1]</sup>指出,研究昆虫的飞行肌线粒体的氧化磷酸化作用,对探求昆虫的迁飞生理机制也可能提供某些有用的资料。淡色库蚊已知为滞育越冬<sup>[2]</sup>,而三带喙库蚊有滞育迁飞可能<sup>[3,4]</sup>。本文进行两种蚊虫的发育蚊和滞育蚊飞行肌(胸肌替代)线粒体内膜标志酶琥珀酸脱氢酶(SDH)比活力测定,探讨滞育越冬和滞育迁飞的可能和不同表现。

1 材料与方 法

三带喙库蚊和淡色库蚊采自上海市郊猪圈和人房,经实验室饲养繁殖,在20±1℃条件下,用不同光周期诱导获得两种蚊的发育蚊和滞育蚊。然后,分别在羽化后7、14和21d各100只蚊的胸部,按照Whitten<sup>[5]</sup>经改良进行胸肌线粒体的提取和琥珀酸氢酶比活力(每分钟ABS/毫克蛋白)检测<sup>6</sup>,具体步骤如下:

1.1 分离线粒体 分别于羽化后7、14及21d各取蚊100只,经用氯仿轻度麻醉后,去掉头部,腹部及肢翅,取胸部,加入pH7.2的STM(0.2498mol/L蔗糖,0.01mol/L Mtris,0.003mol/LMgcl<sub>2</sub>),用Teflon栓子玻璃匀浆器粉碎细胞,制备胸肌匀浆液,然后,用高速低温离心机分级离心,分离线粒体,第1次离心1000g,15min,弃沉淀,第2次离心10000g,30min取沉淀既线粒体,全部过程在4℃条件下进行。

1.2 测定胸肌线粒体SDH比活力 根据酶动力学原理和作为电子接受体的Fe(CH)<sub>3</sub>+经变成Fe(CH)<sub>2</sub>+后吸光度减少原理:



应用Hitachi, Modal 220双光束紫外可见分光光度计,在37℃下测定波长为420nm时的吸光度峰值的改变,计算酶活力每分钟ABS/毫克蛋白,蛋白含量在波长280nm,260nm时吸光度,按公式计算。

2 实验结果

三带喙库蚊和淡色库蚊胸肌线粒体SDH比活力测定结果见表1和表2。

表1 淡色库蚊胸肌线粒体SDH比活力:每分钟ABS/毫克蛋白

蚊种	羽化后时间(d)		
	7	14	21
淡色库蚊发育蚊	0.402	0.472	0.461
淡色库蚊滞育蚊	0.105	0.152	0.118
P	<0.01	<0.01	<0.01

表2 三带喙库蚊胸肌线粒体SDH比活力:每分钟ABS/毫克蛋白

蚊种	羽化后时间(d)		
	7	14	21
三带喙库蚊发育蚊	0.270	0.344	0.221
三带喙库蚊滞育蚊	0.275	0.347	0.279
P	>0.01	>0.01	>0.01

由表中可见,淡色库蚊滞育蚊SDH比活力明显低于发育蚊。三带喙库蚊滞育蚊的SDH比活力略高外,其差异无显著性。表明淡色库蚊滞育后,其胸肌SDH比活亦下降,而三带喙库蚊滞育后胸肌SDH比活力不下降。

3 讨论

SDH是三羧酸循环的关键酶之一,蚊胸肌(主要为飞行肌),从电镜中观察,不仅内含丰富的线粒体,而且,嵴极为密集,几乎填满了线粒的全部空隙,参于电子传递链和氧化磷酸化的酶系,几乎全部位于线粒体内膜。利用线粒体内膜来了解昆虫生理活动与行为关系<sup>6</sup>,早在1951年就有描述,以后许多学者从事了这方面工作,琥珀酸脱氢酶是线粒体内膜标志酶。根据酶动力学和作为电子接受体的Fe(CH)<sub>3</sub>+变成Fe(CH)<sub>2</sub>+后吸光度减少原理,应用Hitachi, Modal220双光束紫外可见分光光度计测定其波长420nm时吸光值的改变,计算出每分钟每毫克胸肌蛋白中酶的比活力(每分钟ABS/毫克蛋白)<sup>6</sup>。方法简便,能精确反映蚊胸肌的能量代谢势能的状态。

昆虫生殖滞育越冬的重要标志为代谢水平下降,包括呼吸率和某些酶系的活性抑制。淡色库蚊滞育蚊胸肌线粒体琥珀酸氢酶比活力比发育显著下降(P<0.01)而三带喙库蚊滞育后琥珀酸脱氢酶比活力不仅不高于发育蚊,甚至略高于发育蚊,具备迁飞活动的可能。

参 考 文 献

[1] 刘树森:昆虫线粒体结构和功能的研究 I. 粘虫蛾飞翔肌线粒体的氧化和磷酸化作用. 生物化学与生物物理学报, 1966;6:143-154.  
 [2] 王仁贵,张恩英.光周期对淡色库蚊滞育越冬影响的观察.昆虫学报, 1979;22:394-401.  
 [3] 王仁贵,张恩英,闵继光,等.三带喙库蚊和淡色库蚊滞育反应比较研究.中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1989.7:35-43.  
 [4] 闵继光,唐玉林,王仁贵,等.上海海滨三带喙库蚊和中华按蚊早春出现与锋面天气的关系.中国公共卫生学报, 1989.8:257-267.  
 [5] Whitten, M J, Foster G G. Genetical methods of pest control. Ann Rev Entom. 1975.20-30.  
 [6] Rong, Y, Wen Wenhua, and Fu, Lingxiong. Myocardial Enzyme Leakage and Succinic Dehydrogenase A activity of Mitochondria correlated with Morphological Changes in the Anoxic Isolated Perfused Rat Heart. J Shanghai Second Med Unive, 1987;1(1):11-16.

(收稿日期:2001-02-21 编辑:李雅卿)

作者单位:上海市第二医科大学寄生虫学教研室,上海200025