

文章编号: 1001-1498(2006)04-0472-05

# 松墨天牛纤维素酶的研究 · 活体条件下金属离子对松墨天牛纤维素酶活性的影响

王浩杰<sup>1</sup>, 索风梅<sup>1</sup>, 郭付新<sup>2</sup>, 徐天森<sup>1</sup>, 丁中文<sup>3</sup>

(1. 中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江 富阳 311400; 2. 河北省磁县岔口乡中学, 河北 磁县 056500;  
3. 浙江省富阳市林业局, 浙江 富阳 311400;)

**摘要:** 选用生产上较常用的  $Ag^+$ 、 $Na^+$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$ 、 $Mn^{2+}$ 、 $Pb^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$ 、 $Fe^{2+}$  共 8 种金属盐离子进行试验, 研究其在活体条件下对松墨天牛纤维素酶 3 种组分 (Cx 酶、C<sub>1</sub> 酶和 葡萄糖苷酶) 活性的影响。结果表明: 处理 24 h 后,  $Fe^{2+}$  对纤维素酶有明显的激活作用, 离子浓度为 1、2 mmol·L<sup>-1</sup> 时 Cx 酶分别增加 4.35% 和 9.76%, 而其余 7 种离子则抑制纤维素酶的活性, 尤其  $Ag^+$ 、 $Cu^{2+}$  和  $Pb^{2+}$  抑制纤维素酶活性作用效果显著, 低浓度时 Cx 酶分别下降 35.20%、36.84% 和 32.49%; 但处理 7 d 后, 参试的 8 种金属离子对该纤维素酶系表现为一致的抑制作用。随着离子浓度 (0.1 ~ 50 mmol·L<sup>-1</sup>) 的升高, 金属离子的酶抑制效应加剧,  $Cu^{2+}$  对 Cx 酶的抑制作用相应为 30.56% ~ 92.55% (短期效应) 和 25.32% ~ 95.78% (长期效应)。虽然  $Ag^+$ 、 $Cu^{2+}$  和  $Pb^{2+}$  均有较好的抑制效果, 但  $Cu^{2+}$  的不可替代的优越性使其在农业生产上具有很好的应用前景。

**关键词:** 松墨天牛; 纤维素酶活性; 活体条件; 金属盐离子; 长期效应; 短期效应

中图分类号: S763

文献标识码: A

## Study on the Character of Cellulase in *Monochamus alternatus* · Effect of Some Ions on the *Monochamus alternatus* Cellulase Activity in vivo

WANG Hao-jie<sup>1</sup>, SUO Feng-mei<sup>1</sup>, GUO Fu-xin<sup>2</sup>, XU Tian-sen<sup>1</sup>, DING Zhong-wen<sup>3</sup>

(1. Research Institute of Subtropical Forestry, CAF, Fuyang 311400, Zhejiang, China;

2. Chakou Village School of Ci County, Hebei Province, Ci County 056500, Hebei, China;

3. Fuyang Forestry Bureau, Zhejiang Province, Fuyang 311400, Zhejiang, China)

**Abstract:** Eight common ions in practice, such as  $Ag^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  and  $Fe^{2+}$  were selected for experiment. The short-term and long-term effects of ions on the *Monochamus alternatus* cellulase activity in vivo was studied. The result showed that activity reduced differently when concentration of ions were added except  $Fe^{2+}$  in experiment conditions. Among the inhibiting ions, the effect of  $Ag^+$ ,  $Cu^{2+}$  and  $Pb^{2+}$  were evident extremely. Because of heavy metal and high price,  $Ag^+$  and  $Pb^{2+}$  were limited in practice, and not suitable for cellulase inhibitor. None but  $Cu^{2+}$  and  $Mn^{2+}$  can be applied in practice, especially  $Cu^{2+}$  have excellent applications potential.

**Key words:** *Monochamus alternatus*; cellulase activity; in vivo; metal ions; short-term effects; long-term effects

松墨天牛 (*Monochamus alternatus* HoPe) 是东亚地区松材线虫 (*Bursaphelenchus xylophilus* Steiner et Buhner) 的主要传播媒介<sup>[1]</sup>, 也是多种林木的重要蛀

干性害虫。该虫除在我国南方少数地区 1 年发生 2 代外, 在绝大部分地区都是 1 年发生 1 代, 主要以老熟幼虫在木质部蛀道或蛹室内越冬。防治松墨天

收稿日期: 2005-07-01

基金项目: 浙江省自然科学基金项目“松墨天牛消化酶演变规律和抑制效应的研究”(303318)

作者简介: 王浩杰 (1961—), 男, 江苏东台人, 研究员。

牛,有效地降低其虫口密度,是预防或控制松材线虫病扩散的积极之举。目前,控制天牛危害的方法很多<sup>[2-6]</sup>,其中化学防治因其简单便捷、见效快等优点而被人们普遍使用,但迄今为止尚无高效、安全的杀虫剂,故迫切需要寻找新的防治途径。

以纤维素类物质为主要营养来源的林木蛀干性害虫,以松墨天牛为例,其肠道消化酶系以纤维素酶为主,纤维素酶是多组分的酶,各组分间又有协同作用,这是相对于其它酶类较少见的特征,同时这也会使其作用于底物时,形成多种终产物及多种反馈控制机理<sup>[7-9]</sup>。由于某些金属离子常常是酶的抑制剂或活化剂,并且,已有研究<sup>[10]</sup>证明,离体条件下几种金属离子对纤维素酶活性影响显著,抑制作用较为理想。本文着重介绍活体条件下,金属离子经天牛的取食活动而对消化道纤维素酶活性产生抑制或激活效应,进而通过虫体的新陈代谢影响其各种生命活动。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试虫源

幼虫收集:于 2002 年 8—9 月从马尾松虫害木段(长 6.0 m 左右,来自浙江省富阳市)中收集个体均匀、龄期一致的松墨天牛大龄幼虫(头壳宽度 0.342~0.418 cm,于木质部中取食)。

成虫收集:取同一批马尾松虫害木段置于 250 m<sup>2</sup>养虫室内,于次年初锯成长约 30 cm 的小木段并放入纱笼内,从 5 月中旬开始收集刚刚羽化出孔的成虫。

### 1.2 金属离子对松墨天牛成虫活体纤维素酶作用的测定

1.2.1 短期效应 选择刚羽化且大小一致的松墨天牛成虫,放入置有马尾松 1 年生枝条(用不同浓度梯度 0、1、0.5、1、2、5、10、50 mmol·L<sup>-1</sup>的金属盐离子溶液处理、长短粗细一致)的养虫缸内,每缸 1 头,每个处理重复 3 次。取食前养虫缸内马尾松枝条的放入量远远大于松墨天牛 24 h 的最大取食量。24 h 后解剖成虫,提取消化道酶液并测定其纤维素酶活性。同时做空白对照,即测定取食未用金属盐离子处理的马尾松 1 年生枝条的松墨天牛消化道纤维素酶的活性,分别与上述各处理的纤维素酶活性做比较。

1.2.2 长期效应 选择刚羽化且个体均匀、大小一致的松墨天牛成虫若干,称质量(试前质量)后放入置有与上述相同处理的马尾松 1 年生枝条的养虫缸

内,每缸 1 头,设计 3 次重复。7 d 后取出成虫,称质量(试后质量),然后解剖并提取消化道酶液,测定纤维素酶活性。同时做空白对照。

### 1.3 松墨天牛成虫纤维素酶液的制备

将松墨天牛成虫于冰水浴下解剖取出消化道,纵剖肠道,用乙酸-乙酸钠缓冲液(pH 值 4.6, 0.2 mol·L<sup>-1</sup>)充分涮洗几次,以清除肠道内容物和肠液。再用 5 mL 乙酸-乙酸钠缓冲液(pH 值 4.6, 0.2 mol·L<sup>-1</sup>)进行冰浴匀浆,于 4℃、15 000 r·min<sup>-1</sup>离心匀浆液 10 min,取上清液作测试用酶液,贮于 -30℃ 冰箱中备用。

### 1.4 松墨天牛纤维素酶活性测定

用 DNS 法<sup>[11]</sup>测定纤维素酶的活性。分别以 1%微晶纤维素(MC)、1%羧甲基纤维素钠(CMC-Na)和 1%水杨素(Salicin)作底物,测定 45℃ 下外切-1,4-葡聚糖酶(C<sub>1</sub>酶)、内切-1,4-葡聚糖酶(C<sub>x</sub>酶)和-1,4-葡萄糖苷酶的活性。3 种底物均用上述乙酸-乙酸钠缓冲液配制。

取上述底物 2 mL、酶液 0.1 mL 混匀,45℃ 水浴保温 1 h 后,加入 DNS 显色剂 2 mL,立即放入沸水浴显色 5 min,流水冷却,定容至 25 mL。于 490 nm 处测 OD 值。每处理重复 3 次,同时设空白对照。以实验条件下单位虫体质量(g)、单位时间(min)酶促反应生成的还原糖(葡萄糖)量(μmol)计算酶活性,即:μmol(葡萄糖)·g<sup>-1</sup>(FW)·min<sup>-1</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 金属离子对松墨天牛成虫纤维素酶活性的短期效应

2.1.1 金属离子种类对松墨天牛成虫纤维素酶活性的短期效应 金属离子对许多蛋白酶活性具有激活或增强作用,尤其对于那些金属蛋白酶更是如此。表 1 反映了实验条件下松墨天牛取食分别用 Ag<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、Cu<sup>2+</sup>、Fe<sup>2+</sup>、Mn<sup>2+</sup>、Na<sup>+</sup>、Pb<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup> 8 种金属离子处理后的马尾松枝条 24 h 后成虫活体纤维素酶活性的变化。

从表 1 可以看出,不同金属离子对纤维素酶活性的影响不同,Fe<sup>2+</sup>对纤维素酶有明显的激活作用,而 Ag<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、Cu<sup>2+</sup>、Mn<sup>2+</sup>、Pb<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>则抑制纤维素酶的活性,这在两种不同浓度(1、2 mmol·L<sup>-1</sup>)的反应液环境均是如此,而且,随着离子浓度的升高,这些离子对纤维素酶的作用效应加剧。进一步比较抑制纤维素酶活性的离子间作用的差异表

明,以 Cx 酶为例,在低浓度 ( $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 下,  $\text{Ag}^+$ 、 $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Pb}^{2+}$  这 3 种金属离子抑制纤维素酶活性作用效果显著 (降低酶活性分别达 35.20%、36.84% 和 32.49%), 其次为  $\text{Ca}^{2+}$  (抑制 22.73%),  $\text{Na}^+$ 、 $\text{Mn}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  等金属离子对 Cx 酶活性抑制作用最弱, 尤其是  $\text{Na}^+$ , 几乎没有抑制作用; 在高浓度 ( $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 下,  $\text{Ag}^+$ 、 $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Pb}^{2+}$  等离子对 Cx 酶活性抑制作用效果依然最显著, 但是这 3 者的抑制强弱顺序有所改变,  $\text{Ag}^+$  和  $\text{Pb}^{2+}$  抑制效果比  $\text{Cu}^{2+}$  强烈, 这是因为前两者是重金属元素, 比  $\text{Cu}^{2+}$  更容易引起蛋白酶的变性和失活。此外, 在高浓度下  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  对 Cx 酶也有很好的抑制效果。结合生产实际, 采用一定浓度的  $\text{Cu}^{2+}$  做为纤维素酶抑制剂具有较好的效果, 虽然  $\text{Ag}^+$  和  $\text{Pb}^{2+}$  也有强烈的抑制作用, 但由于这两者是重金属元素, 不光可以杀灭松墨天牛, 而且会对人畜、环境等均造成严重的危害, 所以在林业生产上不宜作为松墨天牛纤维素酶的抑制剂来达到防治该害虫的目的。

表 1 金属盐离子对松墨天牛纤维素酶活性的影响

金属离子	Cx 酶		-1,4 葡萄糖苷酶		C <sub>1</sub> 酶	
	a	b	a	b	a	b
$\text{Ag}^+$	0.102 9	0.093 4	0.026 3	0.016 0	0.055 6	0.031 5
$\text{Ca}^{2+}$	0.122 7	0.114 1	0.040 1	0.038 4	0.052 1	0.038 4
$\text{Cu}^{2+}$	0.100 3	0.096 9	0.024 6	0.021 2	0.062 5	0.050 4
$\text{Fe}^{2+}$	0.165 7	0.174 3	0.043 5	0.047 0	0.158 8	0.122 7
$\text{Mn}^{2+}$	0.150 2	0.146 8	0.034 9	0.028 1	0.093 4	0.088 3
$\text{Na}^+$	0.157 1	0.148 5	0.036 7	0.031 5	0.093 4	0.090 0
$\text{Pb}^{2+}$	0.107 2	0.093 4	0.016 0	0.010 8	0.012 6	0.010 8
$\text{Zn}^{2+}$	0.152 0	0.115 9	0.034 9	0.028 1	0.040 1	0.048 7
CK	0.158 8	0.158 8	0.041 8	0.041 8	0.096 9	0.096 9

注: a 反应液中金属离子终浓度为  $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ; b 反应液中金属离子终浓度为  $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.1.2 活体条件下  $\text{Cu}^{2+}$  对松墨天牛成虫纤维素酶活性的短期效应 表 2 以实际生产中应用较为广泛的重要抑制性金属离子  $\text{Cu}^{2+}$  为例, 更加清楚地揭示了纤维素酶活性随离子浓度梯度的变化。从表 2 不同梯度浓度下 ( $0.1 \sim 50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 纤维素酶活性的测定值变化可以看出,  $\text{Cu}^{2+}$  对松墨天牛纤维素酶活性具有显著的抑制效果, 在实验设计的梯度浓度下其对纤维素酶 3 种组分的抑制效应分别达 30.56% ~ 92.55% (Cx 酶)、28.71% ~ 72.73% (-1,4 葡萄糖苷酶) 和 24.87% ~ 87.20% (C<sub>1</sub> 酶), 纤维素酶各个组分的酶活性与  $\text{Cu}^{2+}$  的浓度成很鲜明的反比关系, 尤其在  $\text{Cu}^{2+}$  高浓度的影响下, 纤维素酶

的重要组分 Cx 酶活性急剧下降, 只有对照的 7.45%。

表 2 不同梯度浓度  $\text{Cu}^{2+}$  对松墨天牛成虫纤维素酶活性的影响

离子浓度 / ( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$(\mu\text{mol}(\text{葡萄糖}) \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1})$					
	Cx 酶		-1,4 葡萄糖苷酶		C <sub>1</sub> 酶	
	酶活性	<CK/%	酶活性	<CK/%	酶活性	<CK/%
0.1	0.117 5	30.56	0.029 8	28.71	0.072 8	24.87
0.5	0.100 3	40.72	0.024 6	41.15	0.064 2	33.75
1.0	0.096 9	42.73	0.021 2	49.28	0.062 5	35.50
2.0	0.088 3	47.81	0.021 2	49.28	0.053 9	44.38
5.0	0.052 1	69.21	0.017 7	57.66	0.028 1	71.00
10.0	0.019 4	88.53	0.012 6	69.86	0.022 9	76.37
50.0	0.012 6	92.55	0.011 4	72.73	0.012 4	87.20
CK	0.169 2		0.041 8		0.096 9	

## 2.2 金属离子对松墨天牛成虫纤维素酶活性的长期效应

2.2.1 金属离子种类对松墨天牛成虫纤维素酶活性的长期效应 短期效应反映了松墨天牛成虫取食经处理的 1 年生马尾松枝条短期内 (24 h) 体内纤维素酶各组分的活性变化。除了这种短期效应, 作者还研究了松墨天牛成虫在取食不同浓度金属离子处理枝条一段时间 (7 d) 后其体内纤维素酶活性的变化, 即金属离子对纤维素酶活性的长期效应 (表 3)。松墨天牛成虫长期取食经过金属离子处理的马尾松枝条后体内纤维素酶的活性 (Cx 酶、-1,4 葡萄糖苷酶和 C<sub>1</sub> 酶分别为  $0.298 2$ 、 $0.119 3$  和  $0.255 2 \mu\text{mol}(\text{葡萄糖}) \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ) 与对照相比显著下降, 这种效应在实验设计的  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Ag}^+$  溶液中均有不同程度的体现。在低浓度 ( $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 下, 相比之下,  $\text{Na}^+$  的抑制效果最低, 但也能使 Cx 酶和 -1,4 葡萄糖苷酶的活性下降近 50% (分别为  $0.153 7$ 、 $0.060 8 \mu\text{mol}(\text{葡萄糖}) \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ), 但是对 C<sub>1</sub> 酶的抑制效果要差一些。 $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  和  $\text{Ca}^{2+}$  对纤维素酶活性的抑制效果较强, 以松墨天牛纤维素酶的重要组分 Cx 酶作比较, 在相同实验条件下松墨天牛取食这 3 种离子处理的马尾松枝条后体内纤维素酶的活性均低于  $\text{Na}^+$ , 分别为  $0.076 2$ 、 $0.067 6$ 、 $0.074 5 \mu\text{mol}(\text{葡萄糖}) \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  (低浓度下) 和  $0.057 3$ 、 $0.050 4$ 、 $0.050 3 \mu\text{mol}(\text{葡萄糖}) \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  (高浓度下), 低于对应浓度  $\text{Na}^+$  处理后的酶活性 ( $0.153 7$ 、 $0.064 2 \mu\text{mol}(\text{葡萄糖}) \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ); 但是从表 3 可以看出, 实验设计的 8 种离子中, 抑制效果最好的

是  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$  和  $\text{Ag}^+$  4 种,尤其是在高浓度下它们通过松墨天牛的取食能显著地抑制其体内纤维素酶的活性,从而能有效达到抑制松墨天牛消化分解纤维素的目的。

表 3 不同金属离子对松墨天牛(成虫)纤维素酶活性的长期效应

金属离子	Cx酶		-1,4葡萄糖苷酶		C <sub>1</sub> 酶	
	a	b	a	b	a	b
$\text{Na}^+$	0.153 7	0.064 2	0.060 8	0.031 5	0.150 2	0.110 7
$\text{Mn}^{2+}$	0.048 7	0.033 2	0.038 4	0.034 9	0.136 5	0.096 9
$\text{Ca}^{2+}$	0.074 5	0.050 3	0.038 4	0.064 2	0.162 3	0.160 6
$\text{Zn}^{2+}$	0.067 6	0.050 4	0.062 5	0.048 7	0.064 2	0.102 1
$\text{Cu}^{2+}$	0.048 7	0.024 6	0.045 3	0.033 2	0.067 6	0.050 4
$\text{Pb}^{2+}$	0.031 5	0.016 0	0.045 3	0.014 3	0.100 3	0.093 4
$\text{Ag}^+$	0.036 7	0.031 5	0.038 4	0.038 4	0.074 5	0.076 2
$\text{Fe}^{2+}$	0.076 2	0.057 3	0.064 2	0.053 9	0.179 5	0.179 5
CK	0.298 2		0.119 3		0.255 2	

注: a 反应液中金属离子终浓度为  $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ; b 反应液中金属离子终浓度为  $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.2.2 活体条件下松墨天牛成虫消化道纤维素酶活性受  $\text{Cu}^{2+}$  浓度梯度的影响 基于  $\text{Cu}^{2+}$  在农业酶抑制剂上的重要用途和前景,本文进一步分析了  $\text{Cu}^{2+}$  不同浓度梯度下纤维素酶各个组分的变化,以期对  $\text{Cu}^{2+}$  酶抑制剂的研究开发提供理论依据。表 4 是试验设计的 8 个浓度梯度下 Cx 酶、C<sub>1</sub> 酶和葡萄糖苷酶活性测定值。从该表可以看出,在低浓度 ( $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 下  $\text{Cu}^{2+}$  即表现出对 Cx 酶、C<sub>1</sub> 酶和葡萄糖苷酶等活性的抑制效果,随着该离子浓度的进一步升高,这 3 种酶活性却一再降低,表现出酶活性与离子浓度的负的相关关系;而且,从该表还可以看出,Cx 酶受离子抑制效应最显著,酶活性从  $0.298 2 \mu\text{mol}(\text{葡萄糖}) \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  (CK) 急剧下降到  $0.012 6 \mu\text{mol}(\text{葡萄糖}) \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  ( $\text{Cu}^{2+}$  离

表 4 不同浓度  $\text{Cu}^{2+}$  对松墨天牛纤维素酶活性的长期效应

浓度 / ( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	Cx酶	C <sub>1</sub> 酶	葡萄糖苷酶
0.1	0.222 7	0.208 8	0.065 9
0.5	0.181 2	0.150 2	0.060 8
1.0	0.153 7	0.141 6	0.052 1
2.0	0.131 3	0.117 5	0.047 0
5.0	0.057 3	0.110 7	0.045 3
10.0	0.016 0	0.043 5	0.038 4
50.0	0.012 6	0.021 2	0.031 5
CK	0.298 2	0.255 2	0.153 7

单位:  $\mu\text{mol}(\text{葡萄糖}) \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

子浓度为  $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), C<sub>1</sub> 酶次之, 葡萄糖苷酶所受的抑制最弱, 酶活性在高浓度  $\text{Cu}^{2+}$  离子影响下仍然具有 20% 的活性 ( $0.031 5 \mu\text{mol}(\text{葡萄糖}) \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ )。

### 3 结论与讨论

对于金属离子与纤维素酶活性的关系研究主要来自工业纤维素酶方面,而对活体条件下纤维素酶活性受金属离子的影响研究较少,仅限于微生物方面。如有研究<sup>[10]</sup>报道表明, $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$  等对纤维素酶的活性有抑制作用;张丽萍等<sup>[12]</sup>研究认为, $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{2+}$  离子在一定浓度范围内对绿色木酶 9405 所产纤维素酶活力有激活作用, $\text{SeO}_3^{2-}$  在实验浓度范围内对酶活无影响,但是  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Co}^{2+}$  在一定浓度范围内对纤维素酶有抑制作用,尤其  $\text{Cu}^{2+}$  抑制作用显著。

本文在研究松墨天牛消化道纤维素酶组分、适宜温度、最佳酸碱度和热力学性质的基础上,继续研究实验设计的 8 种金属离子 ( $\text{Ag}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Pb}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$ ) 对活体条件下纤维素酶活性的效应(长期效应和短期效应)。研究结果表明,松墨天牛成虫取食 8 种金属离子处理的马尾松枝条 24 h 后,体内纤维素酶活性发生了复杂的变化: $\text{Fe}^{2+}$  对纤维素酶有明显的激活作用,而  $\text{Ag}^+$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  则抑制纤维素酶的活性,并且随着离子浓度的升高,这些离子效应对该虫消化道纤维素酶活性的抑制作用加剧,其中, $\text{Ag}^+$ 、 $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Pb}^{2+}$  这 3 种金属离子抑制纤维素酶活性作用效果显著,其次为  $\text{Ca}^{2+}$ , 而  $\text{Na}^+$ 、 $\text{Mn}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  对纤维素酶活性抑制作用最弱。

研究表明,长期取食经过金属离子处理的 1 年生马尾松枝条后,松墨天牛体内纤维素酶各组分的活性与对照相比显著下降,这种效应在  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Ag}^+$  8 种金属离子处理中均有不同程度的体现,其中, $\text{Na}^+$  的抑制效果最低, $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  和  $\text{Ca}^{2+}$  对纤维素酶活性的抑制效果较强,抑制效果最好的是  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$  和  $\text{Ag}^+$ , 尤其是在高浓度下它们通过松墨天牛的取食能显著地抑制其体内纤维素酶的活性,从而能达到有效抑制松墨天牛消化分解纤维素的目的。尽管  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$  和  $\text{Ag}^+$  都能有效地抑制纤维素酶的活性,但是在实际生产上并不是都能进一步加工生产成酶抑制剂而得到应用, $\text{Pb}^{2+}$  和  $\text{Ag}^+$  由于是重金属

并且价格昂贵因而其应用推广受到很大限制,在农林业生产上不宜作为松墨天牛纤维素酶的抑制剂,真正能用于生产的也就是  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Mn}^{2+}$ ,尤其是  $\text{Cu}^{2+}$  经常加工成波尔多液加以应用。

基于  $\text{Cu}^{2+}$  的显著抑制效应和农林业生产上的广阔应用前景,本文着重进一步研究了离子浓度对纤维素酶的短期效应和长期效应的影响。研究结果表明,  $\text{Cu}^{2+}$  的抑制效应具有浓度效应,即在实验浓度梯度 ( $0.1 \sim 50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 抑制效果不断增强,短期效应下抑制能力达  $30.56\% \sim 92.55\%$  ( $\text{Cx}$  酶)、 $28.71\% \sim 72.73\%$  ( $-1,4$  葡萄糖苷酶) 和  $24.87\% \sim 87.20\%$  ( $\text{C}_1$  酶),而长期效应下这 3 种酶分别下降  $25.31\% \sim 95.78\%$ 、 $18.18\% \sim 91.69\%$  和  $57.12\% \sim 79.51\%$ ,尤其用  $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的  $\text{Cu}^{2+}$  处理纤维素酶系效果较佳,其长期效应和短期效应都接近甚至超过  $50\%$ ,在农林业生产上具有重要的应用前景。

#### 参考文献:

- [1] 张世渊,肖灵亚,蔡道尧. 松褐天牛蛹期生物学特性和有效积温的研究[J]. 森林病虫通讯,1999(2): 15~17
- [2] 赵锦年,蒋平,吴沧松,等. 松墨天牛引诱剂及引诱作用研究[J]. 林业科学研究,2000,13(3): 262~267
- [3] 吴浙东,何晓宣,方立林. 不同农药防治黑杨星天牛试验[J]. 浙江林学院学报,2000,11(1): 106~108
- [4] 张立钦,刘军,吴鸿. 松墨天牛优良白僵菌菌株筛选[J]. 南京林业大学学报,2000,24(2): 53~57
- [5] 王卫东,刘益宁,宝山,等. 宁夏光肩星天牛、黄斑星天牛天敌昆虫的研究[J]. 北京林业大学学报,1999,20(4): 90~93
- [6] 李国宏,高瑞桐,李广武. 斑啄木鸟及诱树防治桑天牛效果的研究[J]. 林业科技通讯,1996(12): 11~13
- [7] 刘妙莲,王洁. 影响纤维素酶活力测定的几个因素[J]. 食品与发酵工业,2000,26(6): 37~39
- [8] Marty M V S, Chandra T S. Engyme Micorb[J]. Technol, 1991(13): 431~434
- [9] 索风梅,王浩杰,徐天森,等. 松墨天牛纤维素酶性质的研究[J]. 林业科学研究,2004,17(5): 583~589
- [10] 索风梅,王浩杰,徐天森,等. 松墨天牛纤维素酶的研究. 离体条件下金属离子对松墨天牛纤维素酶活性的影响[J]. 林业科学研究,2006,19(2): 205~210
- [11] 殷幼平,程惊秋,蒋书楠. 桑粒肩天牛纤维素酶的性质研究[J]. 林业科学,1996,32(5): 454~459
- [12] 张丽萍,董超,王迎春,等. 几种离子对纤维素酶活力的影响[J]. 河北省科学院学报,2000,17(4): 235~238