

苦皮藤素IV对粘虫中肠组织影响的超微结构观察^{*}

廉喜红, 刘惠霞, 吴文君

(西北农林科技大学 植保学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 采用电子显微镜技术研究了苦皮藤素IV对粘虫(*Mythimna separata* (Walker))中肠组织的影响。电镜观察结果表明, 苦皮藤素IV对粘虫中肠肠壁细胞的质膜和内膜系统有一定影响。在苦皮藤素IV作用下, 试虫的柱状细胞顶膜微绒毛扩张; 线粒体肿胀; 粗面内质网扩张, 囊泡化; 杯状细胞与柱状细胞之间间隙增大。这表明苦皮藤素IV破坏了中肠细胞的结构, 使中肠肠壁细胞损伤及细胞间隙增大, 导致毒物易于穿过肠壁细胞间隙进入血淋巴, 进而到达作用部位。

[关键词] 苦皮藤素IV; 粘虫; 中肠肠壁细胞

[中图分类号] S482.3⁺9

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2005)02-0083-03

苦皮藤素IV是从杀虫植物苦皮藤(*Celastrus angulatus* Max.)根皮中分离的一种对昆虫具麻醉活性的二氢沉香呋喃类化合物^[1], 试虫摄毒后的中毒症状主要表现为虫体软瘫麻痹, 对外界刺激无反应^[2]。电生理和生化研究结果表明^[3], 苦皮藤素IV对中枢神经系统轴突传导无明显影响, 但明显影响神经-肌肉接点兴奋性接点电位(EJP), 阻断神经-肌肉接点兴奋性传导, 导致试虫肌肉松弛、虫体瘫软。而苦皮藤素IV对昆虫中肠肠壁细胞影响尚未见研究报道。本研究以粘虫幼虫为试虫, 在电镜下观察了苦皮藤素IV对中肠肠壁细胞的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试虫 粘虫(*Mythimna separata* (Walker)): 室内人工累代饲养后挑选蜕皮后第2天的6龄粘虫供试。

1.1.2 试剂 苦皮藤素IV[1 β 2 β 6 α -三乙酰氧基-8 β 9 α -二(β 呋喃甲酰氧基)-12-异丁酰氧基-4 α -羟基- β -二沉香呋喃]: 纯度84%, 配成质量浓度为10 mg/mL 丙酮溶液供试。

1.2 方法

1.2.1 试虫处理 挑选蜕皮后第2天的6龄幼虫,

饥饿24 h。处理组试虫以载毒叶碟法饲喂(在0.5 cm $\times$ 0.5 cm 小麦叶片上点涂1 μ L 10 mg/mL (亚致死剂量)苦皮藤素IV的丙酮溶液, 待溶剂挥发后喂虫, 一虫一叶)^[2], 分别于试虫麻痹期以及苏醒期取幼虫中肠制备样品, 对照组试虫饲喂同样大小点涂1 μ L 丙酮的小麦叶片。

1.2.2 电镜观察 分别取处理组(麻痹期和苏醒期)及对照组试虫, 置于冰浴中快速解剖, 取出中肠, 去除食物残渣, 4 $^{\circ}$ C下将中肠组织投入40 mL/L 戊二醛前固定, 10 g/L 锇酸后固定, 系列丙酮脱水, Epon 812 包埋剂包埋, 于35, 45, 60 $^{\circ}$ C条件下各聚合1 d, LKBU 型超薄切片机切片, 醋酸铀和柠檬酸铅双重染色。

JEM-2000EX 透射电子显微镜观察样品并拍照, 加速电压为80 kV。

2 结果与分析

电镜观察结果表明: 对照组粘虫中肠杯状细胞杯腔面突起, 呈排列整齐的微绒毛状(图版1); 胞间结构致密; 柱状细胞顶膜微绒毛排列整齐有序(图版2); 线粒体内膜、外膜、嵴清晰可见, 细胞质密度高, 内质网排列整齐, 表面附有大量的核糖体(图版3)。

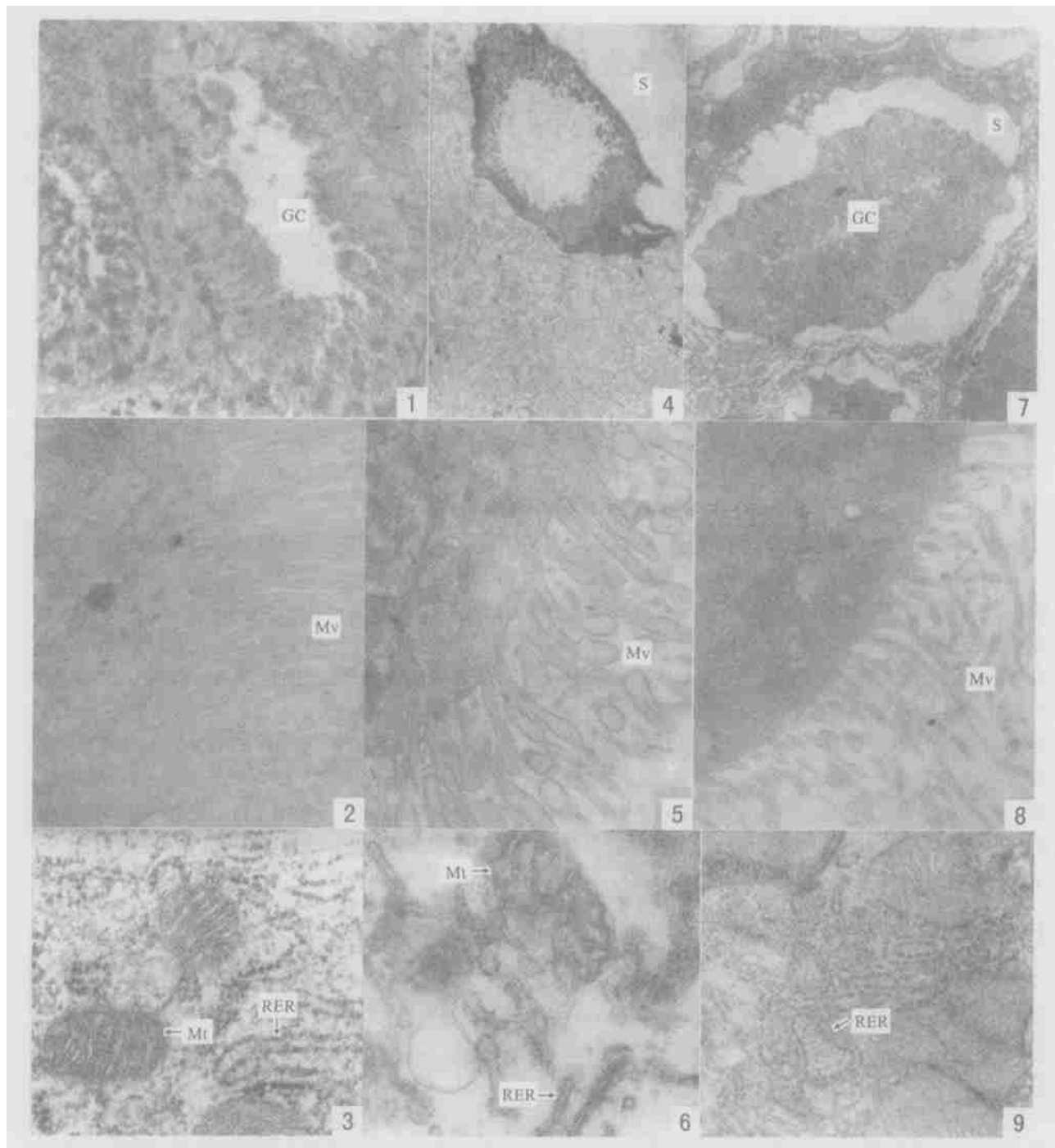
处理组麻痹期, 杯状细胞杯腔内微绒毛稀疏, 部

^{*} [收稿日期] 2004-03-03

[基金项目] 国家自然科学基金重点(30130130)

[作者简介] 廉喜红(1971-), 男, 山西临猗人, 讲师, 主要从事昆虫生理研究。

[通讯作者] 刘惠霞(1945-), 女, 陕西西安人, 教授, 主要从事昆虫生理生化、昆虫毒理学研究。E-mail: Huixialiu@nw.suaf.edu.cn



图版 1~9 苦皮藤素IV对粘虫中肠组织影响的超微结构观察

1. 对照组正常的杯状细胞(GC)与柱状细胞连接紧密, 5 000×; 2. 对照组柱状细胞微绒毛(Mv)排列整齐, 10 000×; 3. 对照组中肠柱状细胞的线粒体(Mt)和粗面内质网(RER), 52 000×; 4. 处理组麻痹期肿胀的杯状细胞, 细胞之间间隙增大(S), 4 500×; 5. 处理组麻痹期肿胀的微绒毛, 10 000×; 6. 处理组麻痹期线粒体肿胀, 粗面内质网扩张, 30 000×; 7. 处理组苏醒期细胞间隙仍明显(S), 4 500×; 8. 处理组苏醒期微绒毛肿胀程度更加明显, 10 000×; 9. 处理组苏醒期线粒体轻度肿胀, 粗面内质网扩张, 30 000×

Explanation of plate 1- 9 Ultrastructural effect of Celastrol IV on the midgut tissue of *Mythisna separata* larvae

1. Untreated goblet cell(GC) showing tight junction between the goblet cell and columnar cell, 5 000×; 2. Untreated microvilli of columnar cells of the midgut, 10 000×; 3. Normal mitochondria and rough endoplasmic reticulum of columnar cells of the midgut, 52 000×; 4. Swollen goblet cells on the paralysis stage and the increasing space (S) between the goblet cell and the columnar cell, 4 500×; 5. Swollen microvilli on the paralysis stage, 10 000×; 6. Swollen mitochondria and dilated rough endoplasmic reticulum on the paralysis stage, 30 000×; 7. Space(S) still exist on the anabiosis stage of treated midgut, 4 500×; 8. Swollen microvilli on the anabiosis stage, 10 000×; 9. The slight swollen mitochondria and dilated rough endoplasmic reticulum on the anabiosis stage, 30 000×

分脱落, 杯状细胞与柱状细胞部分分离, 出现胞外水肿(图版4); 柱状细胞顶膜微绒毛扩张, 细胞质密度降低(图版5); 部分线粒体双层膜消失, 粗面内质网扩张, 囊泡化(图版6)。

处理组苏醒期, 杯状细胞与柱状细胞之间间隙明显增大(图版7); 柱状细胞顶膜微绒毛肿胀、囊泡化(图版8); 线粒体肿胀, 粗面内质网扩张(图版9)。

综上所述, 苦皮藤素IV对粘虫中肠肠壁细胞的质膜及内膜系统均有一定影响, 使细胞膜的屏障作用受到破坏, 而不能维持正常的渗透平衡, 造成柱状细胞微绒毛肿胀, 柱状细胞与杯状细胞之间间隙增大, 继而使细胞器遭到一定程度的破坏和损伤, 毒物则可能通过细胞间隙进入血淋巴, 进而对浸浴在血淋巴中的神经、肌肉等组织造成破坏。由此可以认为, 中肠肠壁细胞是苦皮藤素IV的又一个作用部位。

3 讨 论

本研究结果表明, 苦皮藤素IV作为一种胃毒剂, 对中肠肠壁细胞的质膜和内膜系统有一定影响, 引起粘虫幼虫中肠杯状细胞与柱状细胞间隙增大。这

样直接破坏了中肠肠壁的屏障作用, 使药物更易穿过损伤的细胞及细胞间隙进入血淋巴, 继而作用于其他靶标。因此, 试虫取食苦皮藤素IV后表现的麻痹瘫软症状, 可能是由于中肠细胞的破坏, 以及药剂穿过中肠进入血淋巴而作用于浸浴在其中的神经、肌肉组织所致。由此推测, 中肠组织是苦皮藤素IV的又一作用部位。

虽然苦皮藤素IV作用于试虫后引起的中毒症状与苏云金杆菌(*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*) δ -内毒素对埃及伊蚊(*Aedes aegypti*), 及苏云金杆菌(*Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*) HD-1 纯晶体对粘虫的作用症状相似, 即停止取食、对外界刺激无反应进而体躯麻痹。但造成中肠组织学病变却不尽相同。苏云金杆菌 δ -内毒素引起试虫中肠肠壁细胞质膜穿孔, 粗面内质网扩张, 核糖体脱落, 线粒体肿胀^[4]; 苏云金杆菌纯晶体造成粘虫杯状细胞脱落, 线粒体破坏^[5]; 苦皮藤素IV则主要引起杯状细胞与柱状细胞之间间隙增大。这三者可能在作用机理方面存在差异, 具体原因有待于进一步研究。

[参考文献]

- [1] 吴文君, 涂永强, 刘惠霞, 等. 苦皮藤麻醉成分(苦皮藤素IV)的结构鉴定[J]. 西北农业大学学报, 1993, 21(1): 1- 5
- [2] 吴文君. 植物化学保护实验技术导论[M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1988. 85- 88
- [3] 刘惠霞, 吴文君, 胡兆农, 等. 苦皮藤素IV作用机理的初步研究[J]. 世界农药, 1999, 21(增刊): 79- 82
- [4] Singh G J P, Schouest L, Gill S S. The toxic action of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* in *Aedes aegypti* in vivo I: The relevance of midgut lesions to its poisoning syndrome[J]. Pest Biochem Physiol, 1986, 26: 36- 46
- [5] 王 程, 沙棣云. 苏云金杆菌感染东方粘虫后中肠组织学病变的研究[J]. 昆虫学报, 1991, 34(1): 50- 52

Ultrastructural effect of Celangulin IV on the midgut tissue of *Mythimna separata* larvae

L IAN Xi-hong, L IU Hui-xia, W U Wen-jun

(College of Plant Protection, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi, 712100, China)

Abstract: Studies have been conducted with electric microscope on the ultrastructure of midgut on the armyworm larvae (*Mythimna separata*). The main results are as the followings: Celangulin IV had some effect on the plasmalemma and internal membrane system of the midgut cell of the armyworm larvae. It was characterized by the increases of the intercellular space between columnar cells and goblet cells with the microvilli of goblet cells dilatated. Endoplasmic reticulum (ER) was expanded with vesiculations appeared. Mitochondria of columnar cells were swollen. It indicated that celangulin IV had disruptive function on the structure of midgut cells. The increased space of intercellular and the lesion of midgut cells made the toxin easily come through the midgut cell and enter the hemocoel and finally come to the target.

Key words: Celangulin IV; *Mythimna separata* Walker; midgut cell