

苦皮藤麻醉成分对粘虫 生理生化指标的影响¹⁾

刘惠霞 赵德金 钱洪²⁾

(西北农业大学植保系, 陕西杨陵·712100)

摘 要 采用石蜡切片观察、仪器分析及聚丙烯酰胺凝胶电泳等方法, 研究了杀虫植物苦皮藤麻醉成分对粘虫幼虫某些生理生化指标的影响。结果表明, 苦皮藤麻醉成分不破坏中肠肠壁细胞, 但对围食膜的分泌有显著抑制作用。试虫被麻醉后其呼吸耗氧量及心搏速率明显下降, 其中肠和血淋巴酯酶同功酶谱带和正常试虫相比发生显著变化。

关键词 苦皮藤(*Celastrus angulatus*), 呼吸耗氧量, 心搏速率, 酯酶同功酶, 虫害防治

中图分类号 S482.39, S433.4

害虫, 粘虫

苦皮藤(*Celastrus angulatus* Max.)是我国最有开发价值的杀虫植物之一。田间试验证明, 苦皮藤根皮制剂对菜青虫(*Pieris rapae*)、直纹稻苞虫(*Parnara guttata*)、槐尺蠖(*Semiothisa cinerearia*)等多种害虫有良好的控制作用; 苦皮藤制剂防治这些害虫的原理是基于其麻醉活性物质对昆虫的麻醉作用^[1,2]。苦皮藤根皮中的这种麻醉活性物质已经分离并初步鉴定了分子结构^[3], 但其对昆虫的麻醉机理尚不清楚, 这种麻醉作用对昆虫产生的生理生化影响亦未见研究报道。为此, 我们研究苦皮藤麻醉有效成分对粘虫生理生化指标的影响, 旨在为阐明苦皮藤的作用机制提供资料 and 新的依据。

1 材料和方法

1.1 材料

苦皮藤麻醉有效成分(纯度 90%以上), 吴文君提供。试虫为室内用玉米苗饲养的粘虫(*Mythimna separata*)幼虫。

1.2 方法

1.2.1 组织学观察 挑选饥饿 8 h 的 4 龄粘虫幼虫, 随机分为两组: 一组每头幼虫饲以载有 25 μg 麻醉有效成分的 0.5 cm^2 的玉米叶片, 2 h 后挑出已被麻醉个体作为处理试虫; 另一组每头虫也饲以 0.5 cm^2 的无毒玉米叶片作为对照试虫。10 h 后将试虫置于 60℃ 水中保持 20 min, 从第一对胸足后及最后一对腹足后剪断, 取中间部位制作石蜡切片, 或解剖昆虫取出中肠制作石蜡切片。

1.2.2 呼吸耗氧量测定 将 4 龄麻醉试虫(给药方法同 1.2.1)和正常试虫每 5 头一组, 在 25℃ 条件下用 SKW-2 型微量呼吸检压仪测定耗氧量, 20 min 一次, 共 11 次。

文稿收到日期: 1991-08-31

1) 国家自然科学基金资助项目; 2) 现为北京农业大学应用化学系硕士研究生。

1.2.3 心搏速率测定 将 5 龄麻醉试虫(给药方法同 1.2.1)和正常试虫在蜡盘上固定后从腹面纵向剪开,用昆虫针扩开体壁固定。在解剖镜下仔细将消化道拨向一边,注入生理盐水淹没背血管,在 22~24℃ 条件下测定心搏速率。

1.2.4 聚丙烯酰胺凝胶电泳 挑选 5 龄幼虫饥饿 8 h 后作如下三种处理:①每头试虫饲以载有 25 μg 麻醉有效成分的 0.5 cm^2 玉米叶片,2 h 后挑出取食完载毒叶片的被麻醉个体作为口服麻醉组试虫;②每头幼虫自腹足处注射人体腔 1 μL 含 25 μg 麻醉有效成分的丙酮溶液,2 h 后挑出麻醉个体作为注射麻醉组试虫;③不作任何处理的对照组试虫。所有试虫 12 h 后作试样制备。

血淋巴试样制备。用蒸馏水冲洗虫体,剪断腹足,用 20 μL 采血管取血放入加有少许苯基硫脲的小试管内,加入 1 000 倍体积的 20% 蔗糖溶液,12 000 r/min 冰冻离心 15 min,取上清液置冰箱中备用。

消化道试样制备。解剖采过血的试虫,剖开消化道,刮去内容物,取中肠部分用重蒸水冲洗,冰浴匀浆,定量加入 20% 蔗糖溶液(1.5 $\text{mL}/10$ 头)12 000 r/min 冰冻离心 15 min,取上清液置冰箱中备用。

采用聚丙烯酰胺凝胶电泳。分离胶浓度 10% (W/V), pH 8.3; 浓缩胶浓度 3%, pH 6.8. 电极缓冲液为 Tris-Gly, pH 8.3. 浓缩胶电压 50 V, 分离胶电压 250 V, 4℃ 条件下电泳 6~7 h, 胶板经染色固定后用岛津-CS930 双波长光谱扫描仪扫描。

2 试验结果

2.1 从图 1 可清楚看出,正常粘虫和麻醉粘虫中肠壁细胞未见有明显差异。正常粘虫中肠围食膜完整,而大多数麻醉粘虫中肠的围食膜完全消失,少数麻醉粘虫中肠的围食膜虽可看到,但很不完整。

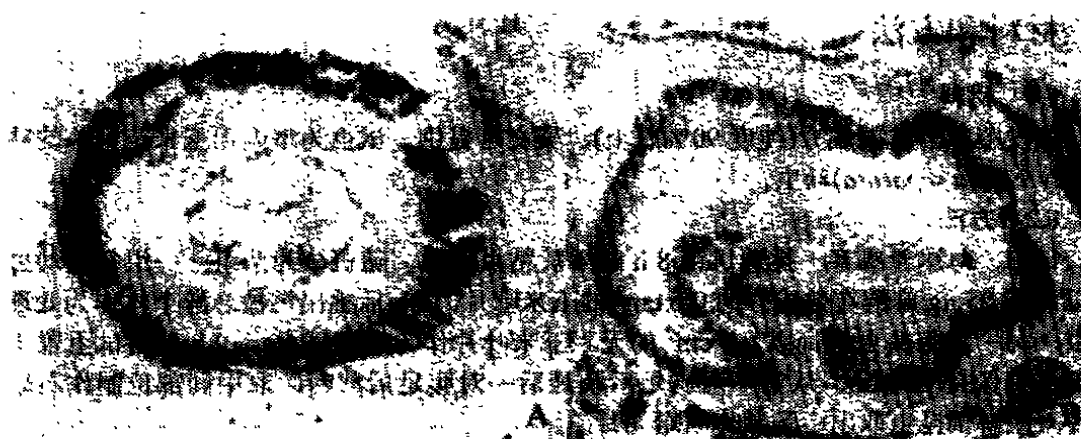


图 1 正常试虫和麻醉试虫中肠横切面组织切片图

A. 正常粘虫中肠横切面(示围食膜完整); B. 麻醉粘虫中肠横切面(示围食膜消失)

外圈箭头: 示肠壁细胞; 里面箭头: 示围食膜

2.2 耗氧量的差异

试虫耗氧量测定结果说明,正常试虫的耗氧量为 $97.04 \pm 7.04 \text{ mm}^3/\text{h}$,而麻醉试虫为 $47.42 \pm 2.21 \text{ mm}^3/\text{h}$. 方差分析表明,重复之间差异不显著,而处理之间(即麻醉试虫和正常试虫之间)差异极显著。麻醉试虫的耗氧量仅为正常试虫的 47.68%~50.24%。

2.3 心搏速率

心搏速率测定结果,正常试虫的心搏率为 $30 \pm 10 \text{ 次/min}$,而麻醉试虫为 $17 \pm 9 \text{ 次/min}$,心搏速率仅为正常试虫的 40%~65%。

此外,还观察到麻醉试虫有下述异常现象:

- (1) 心搏有间歇搏动现象。
- (2) 有逆搏现象,有些个体还出现两极搏动或中央搏动。
- (3) 心脏舒张和收缩不规律,往往舒张两次才收缩一次。
- (4) 心脏搏动微弱,舒张微弱,忽快忽慢,无任何节律。

2.4 血淋巴及中肠组织酯酶同工酶的差异

从中肠酯酶同工酶谱(图2)可以看出,口服处理的麻醉试虫中肠的酶带 E_1 被显著抑制, E_2 、 E_3 、 E_4 、 E_6 、 E_8 也有一定程度的抑制, E_5 、 E_7 带消失,而 E_2 带前出现新带 E_a 带。注射处理的麻醉试虫中肠酶带 E_1 亦被显著抑制, $E_2 \sim E_7$ 亦被不同程度的抑制,而在 E_2 带前出现一新的 E_a 带, E_5 带前出现一新的 E_b 带。

无论口服处理还是注射处理,总的趋势是一致的,即主带均被显著抑制,次带亦被抑制,且有新带出现。

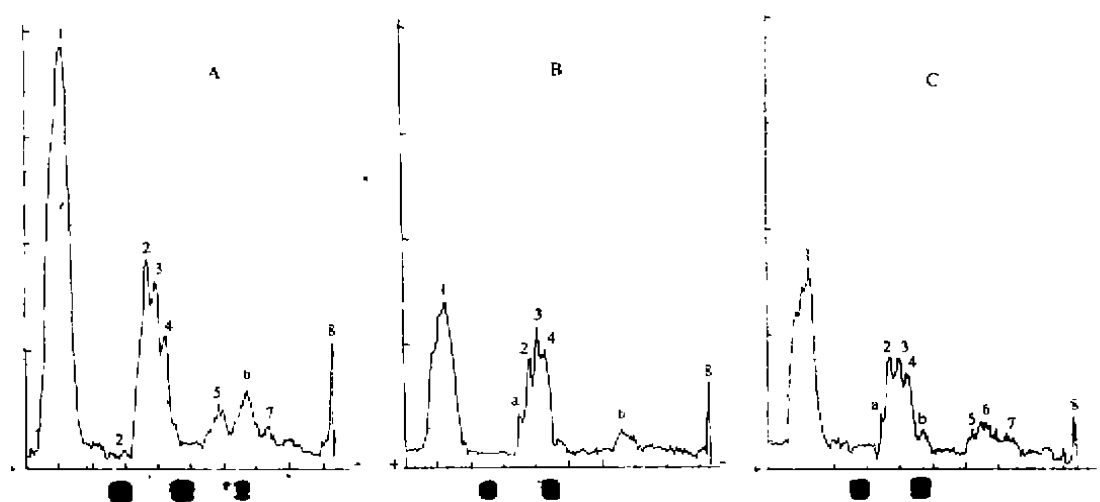


图2 粘虫幼虫中肠酯酶同工酶电泳图谱及扫描图谱

A. 对照; B. 口服处理试虫; C. 注射处理试虫

从血淋巴酯酶同工酶谱(图3)可以看出,口服处理的麻醉试虫 E_1 、 E_7 、 E_9 带被显著

抑制, E_3 , E_4 , E_5 , E_6 , E_8 , E_{11} 带几乎消失, E_2 , E_{10} 带无明显变化; 注射处理的麻醉试虫 E_1 , E_3 , E_4 , E_5 , E_6 , E_7 带被显著抑制, E_8 带消失, E_2 , E_9 , E_{10} , E_{11} 无显著变化。

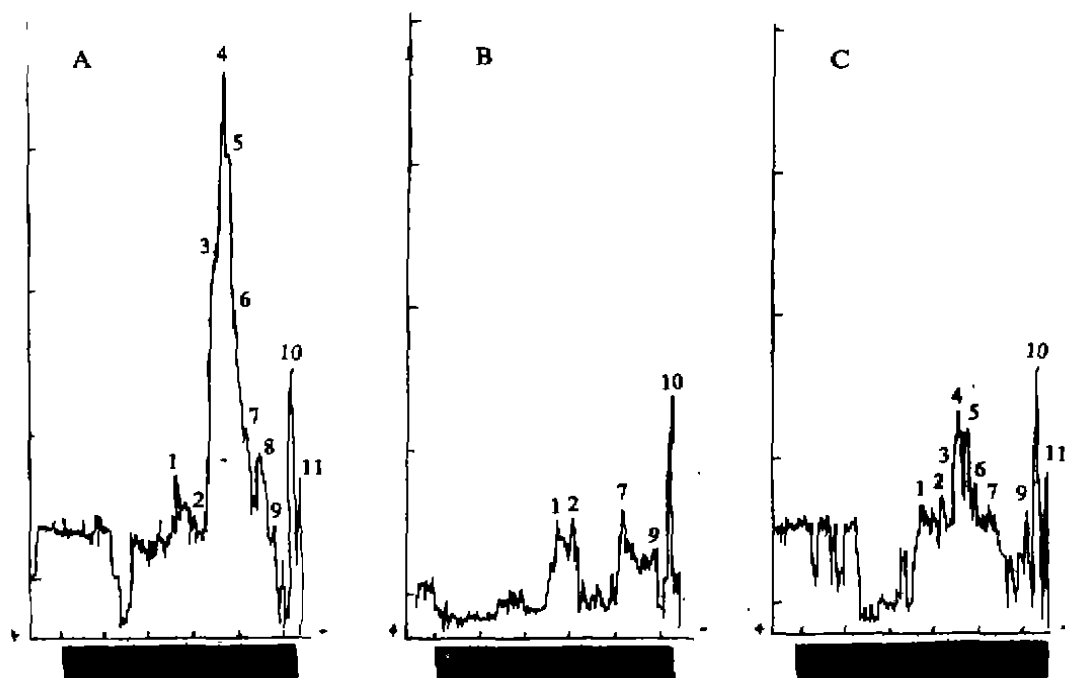


图 3 粘虫幼虫血淋巴酯酶同工酶电泳图谱及扫描图谱

A 对照; B. 口服处理试虫; C. 注射处理试虫

3 分析与讨论

(1) 苦皮藤麻醉有效成分作用于粘虫幼虫后, 并不破坏肠壁细胞, 但导致围食膜很不完备、甚至消失, 可以初步认为是苦皮藤麻醉有效成分抑制或影响了中肠肠壁细胞对围食膜的分泌, 但机理尚不清楚。

(2) 被苦皮藤麻醉成分麻醉的试虫, 其耗氧量仅为正常试虫的 47.68%~50.24%, 心搏速率仅为正常试虫的 40%~65%, 且表现出心律失常。这些结果符合电生理实验得出的初步结论: 苦皮藤麻醉成分作用于神经-肌肉接头处, 明显地抑制了兴奋性接点电位(EJP)(刘安西, 1990, 私人通讯)。因而兴奋传导被阻断, 试虫表现出肌肉松弛, 虫体瘫软, 由神经-肌肉控制的运动(如呼吸运动、心脏搏动等)就会受到影响; 试虫处于麻醉状态, 不活动, 降低了能量代谢, 从而影响到耗氧量和心搏速率。但 K^+ , Na^+ , Ca^{++} 等离子浓度对心搏速率亦有很大影响^[4], 苦皮藤处理的试虫表现出的心搏速率明显减小, 心律失常, 是否由于心肌细胞中 K^+ , Na^+ , Ca^{++} 浓度比例失调引起的, 以及苦皮藤麻醉有效成分对心肌细胞中 K^+ , Na^+ , Ca^{++} 离子浓度有无影响尚需进一步深入研究。

(3) 昆虫体内解毒酶系对分解外源毒物, 保证其生理生化反应的正常进行起着重要的作用。解毒酶系受到抑制后可延长外源物在体内的存留时间, 以便毒物充分发挥作用。由于苦皮藤麻醉有效成分均是以二氢沉香呋喃为骨架的多元乙酸酯或苯甲酸酯^[2], 昆虫体内酯酶同功酶及其活性对苦皮藤麻醉有效成分的解毒作用至关重要。聚丙烯酰胺凝胶电泳结果说明, 无论是口服还是注射处理, 麻醉试虫中肠及血淋巴中酯酶同功酶谱中主带均被抑制, 甚至消失, 次带也被抑制, 这可能是导致苦皮藤有效成分及食物中其他外源毒物发挥毒效的重要因素。

参 考 文 献

- 1 吴文君, 曹高俊. 植物性杀虫剂苦皮藤作用方式的初步研究. 西北农学院学报, 1982, 11(1): 75~80
- 2 吴文君, 曹高俊. 杀虫植物苦树的作用方式及对菜青虫的防治试验. 植物保护学报, 1985, 12(1): 57~62
- 3 Wu W J, Tu Y Q, Liu H X *et al*. Brief report on the isolation and determination of three new compounds Celangulin II, III, IV. 西北农业大学学报, 1992, 20(2): 101~103
- 4 张克斌, 谭六谦. 昆虫生理. 西安: 陕西科学技术出版社, 1989

Effects of Narcotic Components of the Chinese Bittersweet on Physiological and Biochemical indexes Against Armyworm Larvae

Liu Huixia Zhao Dejin Qian Hong

(Department of Plant Protection, Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi, 712100)

Abstract The experiments of narcotic components of the Chinese bittersweet (*Celastrus angulatus*) in physiological and biochemical indices against armyworm (*Mythimna separate*) larvae were carried out using paraffin section, instrumental analysis and polyacrylamide gel electrophoresis. The results showed that narcotic components of the Chinese bittersweet did not destroy the midgut cells but considerably inhibited the secretion of peritrophic membrane. After the experimental larvae were treated with narcotic components, their respiratory oxygen uptake and the rate of their heartbeats were obviously dropped, of which the zymograms of esterase isozyme in midgut and hemolymph of narcotized larvae changed greatly in comparison with those of normal larvae.

Key words *Celastrus angulatus*, respiratory oxygen uptake, heartbeat rate, esterase isozyme, pest management