

苦皮藤素 V 引起粘虫兴奋的作用机理初探

杨润亚, 刘惠霞, 胡兆农, 张林生, 田小曼

(西北农林科技大学 植物源农药研究与开发陕西省重点实验室, 陕西 杨陵 712100)

18453.3
S482.39

[摘 要] 苦皮藤素 V 是从杀虫植物苦皮藤(*Celastrus angulatus* Max)根皮提取物中分离得到的对昆虫有毒杀活性的一种新化合物。通过该化合物引起粘虫产生类似神经毒剂兴奋性症状的机理研究, 结果表明, 苦皮藤素 V 对昆虫中枢神经系统兴奋性突触后电位(EPSP)和轴突动作电位(AP)无显著影响; 试虫经苦皮藤素 V 处理后, 抽搐期和失水期体内乙酰胆碱酯酶(AChE)活性分别下降 33.9% 和 39.6%, 谷氨酸(Glu)含量分别升高 28.44% 和 49.18%, γ -氨基丁酸(GABA)含量分别降低 42.11% 和 44.47%。抽搐期体内谷氨酸脱羧酶活性降低了 8.67%。

[关键词] 植物性杀虫剂; 苦皮藤素 V; 作用机理; 电生理

神经兴奋, 谷氨酸, γ -氨基丁酸

[中图分类号] S482.39

[文献标识码] A

苦皮藤(*Celastrus angulatus* Max)是我国一种传统的杀虫植物, 对其杀虫活性物质及作用机理已进行了大量研究^[1-3]。苦皮藤素 V 是从杀虫植物苦皮藤根皮提取物中分离得到的对昆虫有毒杀活性的一种新化合物^[4], 对昆虫主要表现为胃毒作用。试虫食毒后, 先是表现为兴奋, 虫体扭曲、翻滚、抽搐, 继而呕吐、泻泄, 体液大量流失, 最后死亡。已有的研究^[3]表明苦皮藤素 V 作用于昆虫的消化系统, 破坏中肠肠壁细胞的质膜及内膜, 体液穿过肠壁细胞进入消化道, 引起昆虫呕吐泻泄, 失水而死。但对苦皮藤素 V 引起试虫产生类似神经毒剂兴奋症状的机理尚未进行深入研究。本研究采用电生理方法、生化分析方法进一步探讨了苦皮藤素 V 的作用机理, 旨在为生物合理设计、创制新型杀虫剂提供依据。

1 材料和方法

1.1 供试昆虫

美洲大蠊(*Periplaneta americana*)为室内累代人工饲养的种群。以体长约 30 mm 的雄性成虫为材料制备中枢神经离体标本。粘虫(*Mythimna separata*)为室内累代人工饲养的种群, 挑选蜕皮后饥饿 16~24 h 的六龄幼虫供试。

1.2 供试药剂

苦皮藤素 V 体积分数 90% 以上, 使用时以丙酮配成 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的质量浓度。

1.3 试验方法

中枢神经系统兴奋性突触后电位(EPSP)和轴突动作电位(AP)的测定参照刘安西^[6]

[收稿日期] 1999-09-15

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(29522003)

[作者简介] 杨润亚(1974-), 女, 在读博士。

的方法,采用甘露醇间隙法记录神经电活动。乙酰胆碱酯酶(AChE)活性测定采用 Gorun 等^[7]改进的 Ellman 法。谷氨酸和 γ -氨基丁酸含量采用 Backman 121 型氨基酸分析仪测定。谷氨酸脱羧酶活性测定参考袁玉荪^[8]的方法。

2 结果与分析

2.1 苦皮藤素V对试虫中枢神经系统突触和轴突传导的影响

加入苦皮藤素V后,试虫 EPSP 和 AP 的变化见图1,图2。

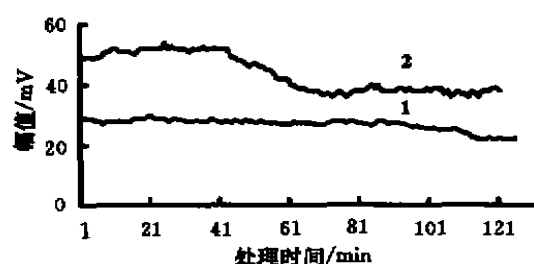


图1 苦皮藤素V对EPSP的影响

1. 不加药处理;2. 苦皮藤素V处理



图2 苦皮藤素V对AP的影响

1. 不加药处理;2. 苦皮藤素V处理

从图1可以看出,苦皮藤素V在 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度下,兴奋性突触后电位并未升高,相反,随着时间的延长反而降低,到84 min 消失。从图2可以看出,苦皮藤素V在 $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度下,轴突动作电位亦未升高,维持100 min 后略下降。这些结果说明,苦皮藤素V并未影响中枢神经系统轴突和突触的神经兴奋传导。

2.2 苦皮藤素V对乙酰胆碱酯酶活性的影响

试虫用苦皮藤素V处理后,不同时期体内 AChE 活性的测定结果(表1)表明,苦皮藤素V对试虫的 AChE 有抑制作用,失水期和抽搐期抑制率分别为 39.6%和 33.9%,但这种抑制作用相对较小,不足以引起试虫虫体扭曲、抽搐等症状,结合上述电生理试验结果,可以认为苦皮藤素V对 AChE 活性的抑制并不是引起试虫兴奋症状的主要原因。

表1 苦皮藤素V对试虫AChE活性的影响

处理	酶比活力/ ($\text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)	抑制率/ %	差异显著性	
			0.05	0.01
对照	2.871 ± 0.499		a	A
抽搐	1.897 ± 0.281	33.9	b	B
失水	1.734 ± 0.187	39.6	b	B

2.3 苦皮藤素V对试虫Glu和GABA含量的影响

试虫经苦皮藤素V处理后,不同时期体内游离 Glu 和 GABA 含量的测定结果(表2)表明,苦皮藤素V作用于粘虫后,试虫体内 Glu 含量明显升高,抽搐期和失水期分别升高 28.44%和 49.81%,而 GABA 含量明显降低,抽搐期和失水期分别降低 42.11%和 49.47%。

表 2 苦皮藤素 V 对试虫体内 Glu 含量的影响

处理	Glu			GABA		
	含量/ (mg · kg ⁻¹)	差异显著性		含量/ (mg · kg ⁻¹)	差异显著性	
		0.05	0.01		0.05	0.01
失水	806±7.1	a	A	4.9±0.8	c	C
抽搐	691±33.5	b	B	5.6±0.1	b	B
对照	538±66.9	c	B	9.5±0.4	a	A

2.4 苦皮藤素 V 对试虫谷氨酸脱羧酶活性的影响

试虫经苦皮藤素 V 处理后,抽搐期试虫体内谷氨酸脱羧酶活性比对照试虫降低了 8.67%,而失水期试虫及对照试虫体内谷氨酸脱羧酶活性差异不显著(表 3)。

表 3 苦皮藤素 V 对试虫体内谷氨酸脱羧酶活性的影响

处理	酶比活力/ (nmol · mg ⁻¹ · min ⁻¹)	差异显著性	
		0.05	0.01
失水	84.25±3.57	a	A
对照	80.52±5.80	a	A
抽搐	73.58±4.02	b	A

3 讨 论

试虫摄食苦皮藤素 V 后,较短时间内表现出虫体扭曲、翻滚等症状,提示苦皮藤素 V 可能影响昆虫的神经兴奋传导。昆虫神经兴奋的传导主要包括轴突的传导、神经元和神经元之间突触的传导以及神经-肌肉接点的传导。苦皮藤素 V 并不增强兴奋性突触后电位及轴突动作电位。虽然试虫取食苦皮藤素 V 后,试虫体内 AChE 活性下降 33.9%~39.6%,但根据有机磷及氨基甲酸酯类杀虫剂对 AChE 的抑制及试虫所表现症状的分析,AChE 活性抑制率低于 50%,试虫一般不会表现虫体扭曲及抽搐等症状。这些结果说明,苦皮藤素 V 对昆虫轴突传导和神经元之间的突触传导没有明显影响。

Glu 和 GABA 都是昆虫神经-肌肉突触部位的神经递质,Glu 是兴奋性递质,其作用和脊椎动物的 Ach 相同,与其受体结合后能产生兴奋性突触后电位。GABA 是抑制性递质,作用和 Ach 相反,与其受体结合后能产生抑制性突触后电位。正常情况下,神经传导是依赖兴奋性突触和抑制性突触的精确平衡来协调。Glu 含量升高,可增强神经-肌肉接点的兴奋性突触后电位,引起肌细胞膜的去极化,导致肌肉收缩,从而使机体表现兴奋、抽搐症状。GABA 含量降低,就增强了膜的兴奋性,使机体容易产生兴奋。苦皮藤素 V 作用于粘虫后,既引起 Glu 含量升高,又引起 GABA 含量降低,二者起协同作用,使试虫产生兴奋、抽搐的症状。

昆虫体内 GABA 的合成途径主要是由谷氨酸脱羧产生^[9]。谷氨酸脱羧酶是催化谷氨酸脱羧生成 GABA 的一种酶,也是 Glu 灭活的一种酶,因此它是昆虫神经递质代谢过程的一种关键酶。试虫取食苦皮藤素 V 后,体内谷氨酸脱羧酶活性降低,既可使 GABA 的生成减少,又使 Glu 的灭活代谢受到抑制,因而试虫体内 GABA 含量降低,Glu 含量升高,这与上述氨基酸的测定结果一致,说明谷氨酸脱羧酶活性降低可能是试虫 Glu 含量升高和 GABA 含量降低的原因。但 Glu 和 GABA 在生物体内的代谢还十分复杂,且谷氨酸脱

羧酶活性降低的幅度并不大,仅为 8.67%,因此谷氨酸脱羧酶是否是苦皮藤素 V 的另一作用靶标,还有待于进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] 吴文君,涂永强,刘惠霞.苦皮藤素 V 成分的结构鉴定[J].西北农业大学学报,1993,21(1):1-5.
- [2] 吴文君,涂永强,刘惠霞.苦皮藤素 V 成分的结构鉴定[J].西北农业大学学报,1993,21(1):6-10.
- [3] 胡兆农,吴文君,高永闯,等.苦皮藤素 V 杀虫机理电生理研究初报[J].西北农业大学学报,2000,28(2):35-38.
- [4] 吴文君,李绍白,朱靖博.新化合物苦皮藤素 V 的分离与结构鉴定简报[J].西北农业大学学报,1994,22(4):116-117.
- [5] 刘惠霞,董育新,吴文君.苦皮藤素 V 对东方粘虫中肠细胞极其消化酶活性的影响[J].昆虫学报,1998,41(3):261-264.
- [6] 刘安西,陈守同.昆虫电生理学实验研究法[M].北京:科学出版社,1990.
- [7] 高希武, Gorun 等改进的 Ellman 胆碱酯酶活性测定方法介绍[J].昆虫知识,1987,24(4):245-246.
- [8] 袁玉荪,朱婉华,陈钧辉.生物化学实验[M].北京:人民教育出版社,1981.
- [9] 刘惠霞,李新岗,吴文君.昆虫生物化学[M].西安:陕西科学技术出版社,1998.

Study on the mechanism of action of celangulin V

YANG Run-ya, LIU Hui-xia, HU Zhao-nong, ZHANG Lin-sheng, TIAN Xiao-man

(Shaanxi Key Lab of Phytochemical Research and Development, Northwest Science and Technology University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: This paper preliminarily reports the mechanism of generating excitation as neurotoxic insecticides of Celangulin V isolated from the root part of *Celastrus angulatus* Max, using electrophysiological and biochemical methods. The electrophysiological results show that Celangulin V has no effects on the excitatory postsynaptic potential (EPSP) and the action potential of the nerve-giant fiber axon from the cockroach CNS preparation. After the sixth-instar larvae of *Mythimna separata* following oral administration with Celangulin V, the activity of acetyl choline esterase (AChE) of excitatory and convulsory larvae decreased by 33.9% and 39.6% respectively, compared with normal larvae; the glutamate (Glu) content raised by 28.44% and 49.18% and the content of γ -aminobutyric acid (GABA) reduced by 42.11% and 44.47%. In the convulsory larvae, the activity of glutamic decarboxylase decreased by 8.67%.

Key words: botanical insecticide; Celangulin V; mechanism of action; electrophysiology