

松油烯-4-醇对粘虫幼虫体壁结构的影响^{*}

陈根强, 李广泽, 冯俊涛, 陈安良, 张 兴

(西北农林科技大学 无公害农药研究服务中心, 陕西 杨陵 712100)

[摘 要] 用砂地柏精油主要杀虫活性成分松油烯-4-醇熏蒸处理粘虫 6 龄中期幼虫后, 在扫描电镜下观察了不同中毒阶段粘虫体表蜡质颗粒及体壁底膜的变化。结果表明, 松油烯-4-醇处理可导致粘虫幼虫体表蜡质层颗粒形态和排列形式发生改变, 颗粒间空隙变大, 体壁底膜也有一定程度的破坏, 这些病变可能是导致体表失水的主要原因。

[关键词] 砂地柏精油; 松油烯-4-醇; 粘虫; 体壁结构; 扫描电镜

[中图分类号] S482.3⁺9;Q962

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2003)02-0067-04

松油烯-4-醇是从砂地柏(*Sabina vulgaris* Ant)种子中分离纯化得到的一个单萜类物质^[1], 是砂地柏精油的主要杀虫活性成分, 对多种昆虫表现出较高的熏蒸活性^[2]。初步研究表明^[2], 熏蒸处理后, 试虫都表现出明显的体表失水现象, 且不同中毒阶段失水量明显不同。为探讨松油烯-4-醇导致昆虫体表失水的机理, 以粘虫为试虫, 对其体表及体壁底膜进行了扫描电镜观察。

1 材料与方法

1.1 供试药剂

松油烯-4-醇(Terpinen-4-ol), 纯度 95% (北京百灵威化学公司提供)。

1.2 供试昆虫

粘虫(*Mythimna separata* Walker)由西北农林科技大学无公害农药研究服务中心养虫室(培养温度(25±1)℃, 相对湿度 70%~80%, 每日光照及暗培养各 12 h, 用玉米叶或小麦叶饲喂)提供。试验时挑取生长发育正常、生理状态整齐一致的 6 龄中期幼虫供试。

1.3 主要仪器

HITACHI S-450 扫描电镜(日本); HITACHI HCP-2 临界干燥器(日本)。

1.4 试验方法

参照张景强^[3]的方法。挑取均匀一致的 6 龄中期幼虫, 用松油烯-4-醇进行熏蒸处理。分别挑取兴奋期、痉挛期、昏迷期、死亡期、复苏期的试虫, 用体积分数 4% 戊二醛固定 2~4 h, 然后剪掉头胸部及腹部末端, 再继续在戊二醛中固定 24 h。解剖虫体, 取其表皮, 用 0.1 mol/L pH 7.3 磷酸缓冲液冲洗 2 次后, 用酒精逐级脱水(酒精的体积分数分别为 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%), 每次 15 min, 再用醋酸异戊酯脱水 20 min, 然后用 CO₂ 临界点干燥仪干燥 2 h, 取出样品。用双面胶带粘在铜台上作真空金属喷涂, 在 S-450 型扫描电镜下放大 4 000 倍观察体壁蜡质层颗粒及体壁底膜的组织结构, 并拍照。

2 结果与分析

2.1 试虫体表蜡质颗粒形状及排列形式的变化

松油烯-4-醇处理粘虫体表电镜扫描照片见图 1。从图 1 中可以看出, 对照试虫体表蜡质层颗粒呈多边形(五边形或六边形), 如鱼鳞状或叠瓦状紧密排列; 兴奋期蜡质层颗粒趋于圆球形, 颗粒间空隙变大; 痉挛期蜡质层颗粒呈圆球形或熔融态, 颗粒间空隙进一步增大; 昏迷期蜡质层颗粒则完全变形, 有消融

^{*} [收稿日期] 2002-03-13

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(39979506)

[作者简介] 陈根强(1968-), 男, 河南洛阳人, 副教授, 硕士, 主要从事植物保护学研究。现在河南科技大学园林系工作, 河南洛阳 471003。

[通讯作者] 张 兴(1952-), 男, 陕西周至人, 教授, 博士生导师, 主要从事农药学及天然药物化学方面的教学与研究。

的迹象, 试虫体表大量失水。蜡质层颗粒的形状及排列形式发生改变, 可能是导致试虫体表大量失水的一个主要原因。

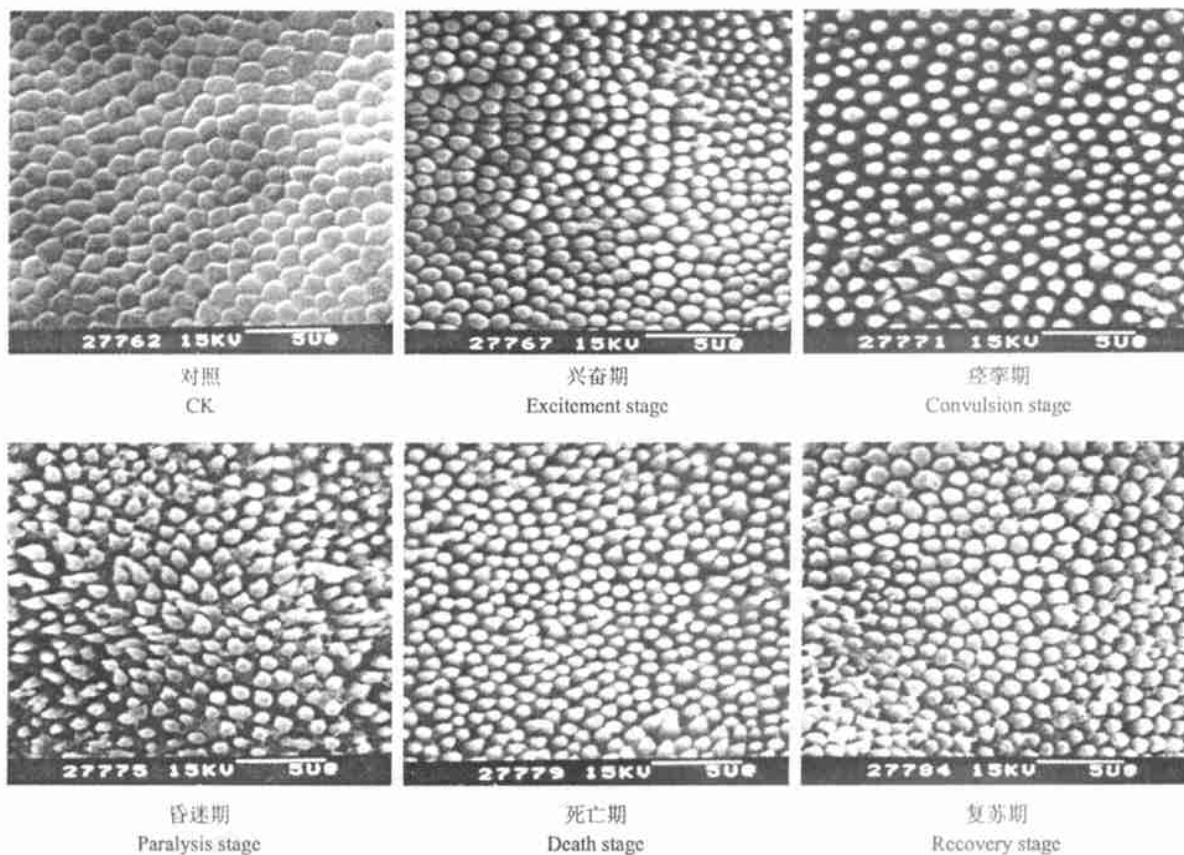


图 1 松油烯-4-醇处理粘虫体表的电镜(4 000×)扫描结果

Fig 1 Pictures scanned by scanning-electron microscope of body wall of *Mythimina separata* during different symptom stage poisoned with terpinen-4-ol

2.2 体壁底膜的变化

图 2 为松油烯-4-醇处理粘虫后, 体壁底膜电镜扫描的观察结果。由图 2 可见, 对照试虫体壁内侧底膜很平滑, 均匀一致, 而处理虫体均有一定程度的变化。尤其是昏迷期和死亡期的试虫, 底膜有不同程度的破损, 可见到大小不一的缝隙、穿孔, 甚至大面积溃烂。体壁内侧底膜的破坏可能是造成虫体失水的另一个重要原因。

3 讨论

3.1 松油烯-4-醇导致蜡质颗粒排列变化是粘虫幼虫体表失水的主要原因

蜡质层颗粒的形状及排列形式发生改变, 可能是导致试虫体表大量失水的一个主要原因。昆虫体壁蜡质层为单分子层排列, 每个分子与表面呈 25° 倾斜, 极性的一端朝内, 非极性的一端朝外, 在范德华力的作用下, 分子间排列非常紧密, 形成叠瓦状覆

盖层, 水分子很难穿透这种蜡层。但当温度升高到临界点时, 使分子获得动能, 排列形式发生变化, 蜡分子全部垂直于虫体表面, 成为毛刷状覆盖层, 分子间的键断裂而产生间隙, 这样, 水分子通过蜡质层的可能性大大增加, 或由于脂的溶化而成为液晶相, 也使水分子的穿透性增高, 这是表皮失水性能大增的原因^[4]。症状观察表明, 松油烯-4-醇熏蒸处理后可导致试虫大量失水, 从电镜扫描照片可以看出, 蜡质层分子发生与上述温度升高到临界点后相似的变化, 这可能是造成昆虫体表失水的直接原因。体壁蜡质层结构的变化可能是由于松油烯-4-醇的吸附对蜡质颗粒的溶解导致分子极性及其排列形式改变。油脂类物质造成昆虫失水的现象与其对体壁蜡质的溶解相关, 并且表现出极性越小, 失水率越高的规律^[5]。松油烯-4-醇在常温下为黄色透明液体, 易挥发, 易溶于乙醚、丙酮等中等极性溶剂^[6]。根据松油烯-4-醇的理化性质推断, 其对体壁蜡质成分具有一定的

溶解性, 因此可以推断体壁失水也可能与这种作用 有关。

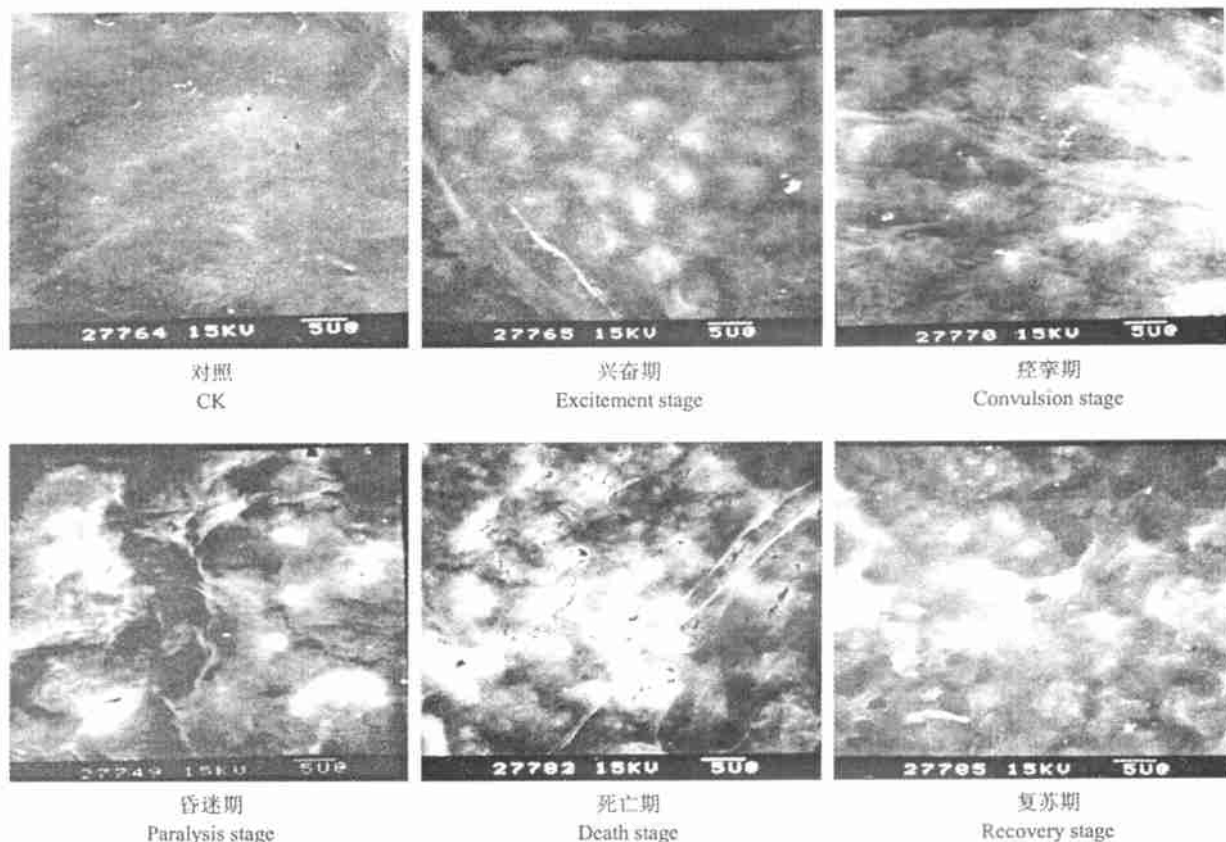


图2 松油烯-4-醇处理粘虫体壁底膜的电镜(4 000×)扫描结果

Fig 2 Pictures scanned by scanning-electron microscope of cuticle basement membrane of *Mythim a separata* during different symptom stage poisoned with terpinen-4-ol

3.2 松油烯-4-醇作用于神经系统导致虫体失水

体表失水也可能是对神经系统的作用所产生的效应, 神经作用于表皮的分泌活动, 导致水分分泌。如拟除虫菊酯处理昆虫后造成的体表失水现象, 是由于其对神经控制的表皮分泌活动的影响^[7]。Coats等^[8]也进行了多种萜类物质的神经毒理作用研究。症状学研究发现, 松油烯-4-醇与拟除虫菊酯类药剂极为相似^[2]。酶学研究也表明, 松油烯-4-醇主要作用于 K^+-Na^+-ATP 酶, 与拟除虫菊酯类药剂的作用机理相似^[2]。由此可以推断, 松油烯-4-醇对神经系统的作用导致体表水分分泌增加, 可能是导致昆

虫失水的另一个原因。

3.3 体壁底膜破坏可能与体表失水有关

昆虫体壁底膜由血细胞分泌的中性粘多糖组成。这一层薄膜分隔了皮细胞和血淋巴, 并提供了一个垫状组织, 使神经和微气管得以附着并能伸入到该组织的中间^[9]。体壁底膜的破坏可能影响了皮细胞与血淋巴之间的离子通透和物质传递, 也会对附着其上的神经组织有一定的影响。本研究中也发现, 内侧膜的破坏程度与昆虫失水程度有一定的相关性, 由此可以推断两者有一定的关联。

[参考文献]

- [1] 魏红梅 几种植物精油熏蒸杀虫作用及其活性成分研究[D] 陕西杨陵: 西北农林科技大学, 2000
- [2] 陈根强 砂地柏精油主成分松油烯-4-醇杀虫作用研究[D] 陕西杨陵: 西北农林科技大学, 2001
- [3] 张景强 生物电子显微技术[M] 广州: 中山大学出版社, 1987
- [4] 王荫长 昆虫生理生化[M] 北京: 中国农业出版社, 1994
- [5] Ebeling W, Wagner R E. Rapid desiccation of drywood termite with inert sorptive dusts and other substances[J]. J Econ Entomol, 1959, 52: 190- 207.
- [6] 吴文君, 刘惠霞, 朱靖博, 等. 天然产物杀虫剂[M] 西安: 陕西科学技术出版社, 1998

- [7] 赵善欢 昆虫毒理学[M]. 北京: 农业出版社, 1993
- [8] Coats J R, Karr L L, Drewes C D. Toxicity and neurotoxic effects on monoterpeneoids in insects and earthworms[A]. Hedin P A. Naturally occurring pest bioregulators[C]. Washington, D C: American Chemical Society, 1991. 305- 316
- [9] 王荫长 昆虫生理学[M]. 北京: 科学出版社, 1986

Observation of the pathological change of *Mythimna separata* Walker treated by terpinen-4-ol under scanning-electron microscope

CHEN Gen-qiang, LI Guang-ze, FENG Jun-tao, CHEN An-liang, ZHANG Xing

(Biorational Pesticides R & D Center, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: To research the mode of water loss from body wall and the related pathological changes, *Mythimna separata* treated by terpinen-4-ol were observed under scanning-electron microscope. The results showed that the pellet structure and basement membrane of the cuticle were destroyed, which might be correlated with water loss from cuticle.

Key words: *Sabina vulgaris*; terpinen-4-ol; *Mythimna separata*; structure of body wall; scanning-electron microscope

· 简 讯 ·

“笼养鸡的发育与 AChE, GAP-43 在脑中的表达”研究项目 获 2002 年陕西省科技进步二等奖

由西北农林科技大学动物科技学院范光丽教授率领的课题组完成的“笼养鸡的发育与 AChE, GAP-43 在脑中的表达”研究项目获 2002 年陕西省科技进步二等奖。范光丽教授多年来进行畜禽神经生物学研究, 该学科是生命科学中的新兴前沿学科。课题组针对机械化饲养中出现的运动不足病所造成的动物生长发育迟缓、生殖利用年限降低等重要问题开展了研究, 在适量运动促进笼养鸡神经系统发育、神经活性物质在脑中的定位及功能、脑核团发育与生殖的研究等方面, 以及祖国传统医学针灸穴位与生殖机理研究方面取得了一定的成绩。

该研究取得的成果有: (1) 应用间歇灯光调控笼养鸡运动技术(自行设计)。确定了鸡生长发育规律分 4 个阶段, 适量运动可促进脑脊髓、骨骼和生殖器官的发育, 对产蛋量和蛋肉品质也有良好影响。(2) 应用免疫组织化学技术, 确定了生长相关蛋白(GAP-43)、乙酰胆碱酯酶(AChE)在胚胎期、出生后发育期端脑、间脑中的分布特点, 发现脑核团发育快慢不一。由鸡间脑中神经生长因子(NGF)、胆碱乙酰转移酶(ChAT)在产蛋初期、高峰期、后期、停产期的免疫反应强度和免疫阳性物质的表达规律与生殖高峰相一致这一结论, 确定了 NGF、ChAT 具有神经营养作用, 并参与生殖调控。确定了鸡间脑(丘脑、下丘脑)卵圆核等 22 个脑核团具有生殖调控的生理功能。确定了产蛋高峰期突触素(SV P-38)免疫反应增强, 是通过各脑核团中神经元之间突触增多, 神经信息传递加快, 实现生殖调控的形态学基础。(3) 应用针刺穴位和动物模型, 确定了针刺肾旁穴促进动物发情受孕的机理与间脑中生殖相关核团中神经细胞膜上的雌二醇(E₂)受体免疫反应阳性物质增多直接相关。应用逆行神经追踪、荧光双标等方法确定了生殖、免疫、内分泌等多个器官的神经支配特点及穴位内脏相关的 3 条中枢外神经联系途径。

该研究经专家鉴定, 一致认为达国际先进水平, 一些研究内容为国内外首次报道。其创新点如下: (1) 国内外首次确定适量运动可促进鸡神经系统发育。(2) 发现鸡脑中运动神经核团发育较快, 提出“脑核团发育不均衡”观点, 填补了发育神经生物学空白。(3) 提出禽类在生殖高峰期, 脑中有更多的神经核团参与生殖的神经内分泌调控, 此观点尚未见文献报道。确定了针刺肾旁穴脑中神经活性物质 E 的变化, 为生殖调控机理研究增加了新证据。

围绕该项研究共发表论文 80 余篇, 其中国外 8 篇, 一级学报 11 篇; 发表论文被世界图书出版公司兽医索引 CAB、联合国粮农组织农业索引 Agriis、俄罗斯《P. Ж》收录共 11 篇; 被国外、国内作者引用 80 余篇次; 出版专著、教材 10 部, 一些成果被写进面向 21 世纪教科书; 将畜禽神经生物学新技术推广到 60 多所农业及医学院校, 推动了本学科的发展。

(窦春蕊 供稿)