

粘虫幼虫感受器扫描电镜观察 及川楝素的抑制作用

廖春燕 刘秀琼

(植保系)

提 要

粘虫六龄幼虫头部化学感受器扫描电镜观察结果表明, 内唇着生有两对腔锥感受器; 幼虫下颚的结构与其它鳞翅目幼虫相似。拒食点滴试验结果表明, 川楝素的拒食作用部位是下颚; 而杀虫脒的作用部位是舌; 但加过量半胱氨酸或二硫苏糖醇的川楝素, 对下颚须的抑制作用消失。本文探讨了川楝素的有关作用机理和拒食活性部位问题。

昆虫的化学感受器与其选择食物和寻找产卵场所有密切关系, 近年来这一领域的研究越来越受到重视。有实验表明, 切除下颚的烟草天蛾幼虫 *Manduca sexta* (L.) 可在非寄主植物蒲公英上取食^[14], Ishikawa 报道了桑蚕 *Bombyx mori* (L.) 幼虫下颚味觉感受器对各种取食抑制物的敏感性试验^[9]; Ma 报道了非洲粘虫 *Spodoptera exempta* (W.) 下颚瘤状体栓锥感受器对活乐木醛的电生理反应^[11]。

川楝素 Toosendanin 对多种农业害虫均有较显著的拒食作用^[1]。本试验在观察粘虫 *Mythimna separata* (W.) 幼虫头部化学感受器形态基础上, 用点滴方法处理感受器, 测定各个感受器对川楝素的反应, 以确定川楝素的拒食作用部位。

材 料 及 方 法

(一) 供试粘虫

均为养虫室用玉米叶或人工饲料饲养的连续世代, 取蜕皮24小时的健康六龄虫供试。

(二) 供试药剂

以5%丙酮: 5%吐温80: 90%蒸馏水作溶剂, 配制下列药剂。

1. 川楝素: 纯度98%, 配成700ppm溶液供试。
2. 杀虫脒: 纯度99%, 配成5000ppm溶液供试。
3. L-半胱氨酸盐酸盐: 配成700ppm川楝素—过量半胱氨酸混合液。
4. 二硫苏糖醇 (Dithiothreitol简称DTT): 配成700ppm川楝素—过量DTT混

合液。

(三) 电镜标本方法

将所观察的部位分别解剖出来,按常规扫描电镜标本制作方法处理,在JSM—25S型(日本制造)扫描电镜下观察和摄影。

(四) 点滴法拒食测定

用微量进样器分别将药液在双目镜下准确点滴在幼虫下颚须顶端、下颚瘤状体、舌中央和触角顶端。点滴药量为0.01微升/感受器,对照组点滴等量的溶剂,并以杀虫脒作处理对照,以拒食率表示不同处理间的差异^[6]。

试验结果

〈一〉幼虫头部化学感受器观察结果

1. 内唇Epipharynx: 上唇的内壁膜质而有密毛及感受器,称为内唇。扫描电镜($\times 150$)下观察到,内唇膜上左右对称各有一对乳头状突起的圆锥感受器(图1A),高倍($\times 1500$)观察到圆锥感受器成双着生在卵形内陷的窝中,一大一小,其顶端较钝且有一微孔,较大的感受器末端色暗呈帽状结构(图1B)。已有文献报道,大菜粉蝶*Pieris brassicae* (L.) 非洲粘虫和烟草天蛾幼虫内唇仅有一对圆锥感受器^{[10][7]},而在烟草切根虫*Spodoptera litura* (F.) 发现有两对^[6]。它们对取食抑制物有感觉作用,并控制昆虫的吞咽行为。

2. 下颚Maxillae: 由下颚须Maxillary Palpus和瘤状体Maxillary Lobe两部分组成(图2)。下颚须分3节,端节顶部呈圆锥形内陷,上着生有八个圆锥感受器,其中位于中间的三个尖端较钝且基部周围内陷,其余五个尖端呈小棒状突起(图3)。瘤状体顶端有两个细长、分节的栓锥感受器Sensillum Styloconicum(图4)。扫描电镜($\times 700$)观察到栓锥感受器顶端呈锥形帽状结构,锥形体光滑且有一个多渠道的微孔Multichannel Pore(图5)。幼虫取食时,下颚不断抖动,与叶面化学成分接触而产生味觉,从而决定植物能否取食,是昆虫重要的味觉感受器。

3. 触角Antennae: 昆虫的嗅觉感受器主要集中在触角。粘虫幼虫触角短,由三节组成。第二节和第三节上的三个较大的圆锥感受器是重要的嗅觉感受器(图6)

〈二〉川楝素对感受器的抑制作用

试验结果见表1。用700ppm川楝素点滴四种不同的感受器,引起拒食作用最强的器官是下颚须,拒食率为37.07%;而对下颚瘤状体的作用次之。从点滴舌和触角所得的结果,可以认为川楝素的拒食部位不在舌和触角。但加有过量半胱氨酸或DTT的川楝素液处理下颚须,处理虫无拒食反应,说明加入巯基化合物的川楝素的拒食作用消失。

5000ppm杀虫脒液点滴四种感受器,点滴舌中央的拒食作用最强,拒食率为44.46%,与其它三种处理所得的结果差异显著。本实验结果与Antonious等报道的结果一致,认为杀虫脒的拒食作用部位是舌^[6]。

表 1 药剂点滴处理幼虫感受器的拒食作用测定 (1984年7月 广州)

药 剂	浓度 (ppm)	点 滴 部 位	平均拒食率 [*] (%)	
川 楝 素	700	下颚须	37.07	a
		下颚瘤状体	18.58	ab
		舌中央	3.53	b
		触 角	2.69	b
川楝素+DTT	700 + 过量		-0.72	b
川楝素+半胱氨酸		下颚须	-2.42	b
		舌中央	44.46	a
		下颚瘤状体	6.60	b
杀 虫 脒	5000	下颚须	0.79	b
		触 角	10.84	b

* 各拒食率均为10个重复的平均值。拒食率一栏内字母相同者, 经方差分析 (DMRT法), 于5%水准上无显著差异。

讨 论

植食性昆虫依靠本身的感觉系统, 辨识食料植物及寻找产卵场所。昆虫取食过程包括其对植物的定位和趋性反应; 到达并停留在植物上开始探测, 咬食或刺吸, 若反应适宜, 可继续取食直至饱餐^[8]。而在整个取食过程中, 化学感受器起了重要作用, 化学感觉分为嗅觉和味觉, 主要分布在下颚, 内唇和触角^[2]。而使用拒食剂, 可抑制味觉感受器的功能, 达到减少害虫取食, 保护作物的目的。

从点滴试验结果可见, 川楝素对粘虫幼虫嗅觉器官没有作用, 而主要作用于幼虫味觉感受器而引起拒食。认为川楝素的主要作用部位是下颚须和瘤状体。

下颚是重要的味觉器官, 但目前研究较多亦较为清楚的主要是瘤状体的两个栓锥感受器; 已经知道每个栓锥感受器由五个双极神经细胞控制, 除一个是机械感觉细胞外, 其余四个均为化学感觉细胞; 通过电生理的方法, 目前已经测出二十多种鳞翅目幼虫栓锥感受器的反应谱^{[10][12]}。但对于下颚须是否有味觉作用研究较少, 有学者认为, 下颚须八个圆锥感受器中, 尖端较钝的三个感受器可能是嗅觉感官, 而其余五个尖端呈小桿状突起的可能是味觉感受器^[12]。从本试验结果来看, 下颚须具有味觉功能, 而且对取食抑制物质有反应。进一步弄清下颚须的超微结构及八个圆锥感受器的生理功能, 对于解释拒食剂的作用机理很有帮助, 这方面的研究有待于今后努力。

加过量硫基化合物的川楝素, 对幼虫的拒食作用消失。不少学者认为, 拒食剂引起昆虫拒食, 可能是拒食剂与位于昆虫感受器表面的硫、氢原子形成永久性结合, 从而阻止了某些酶与这些硫、氢原子的结合, 但昆虫要有味觉似乎必须有赖于这些酶与硫、氢原子的接触^{[3][13]}。川楝素是一种含呋喃环的四环三萜化合物^[4], 其结构上有一个三元醚环和一个四元醚, 这两个醚环结构上是不稳定, 易与其它物质起化学反应。根据

其结构,我们初步推测,川楝素的拒食作用很可能是这二个醚环与感受器表面维持某种酶活性的硫、氢原子发生了加成反应,使得与味觉有关的酶失去活性,而使昆虫表现拒食。因此加入过量含-SH基的化合物,如半胱氨酸或二巯苏糖醇时,川楝素的两个醚环与之发生加成反应,故对幼虫无拒食反应。这方面的研究尚缺乏直接的试验证据,有待于进一步的探索。若能弄清川楝素的拒食活性中心,对于人工合成较简单的类似物及了解川楝素的作用机理有重要意义。

参 考 文 献

- [1] 赵善欢、张兴: 植物杀虫剂对水稻三化螟的拒食及内吸毒力试验, 《中国农业科学》, (2) 1982: 55—62.
- [2] 钦俊德: 植食性昆虫食性的生理基础, 《昆虫学报》, 23 (1) 1980: 106—122.
- [3] 陈邦铸: 新型杀虫剂“抗食素”, 《国外科技动态》, (72) 1981: 24—25.
- [4] 舒国欣、梁晓天: 关于川楝素的化学结构的修正, 《化学学报》, 38(2) 1980: 196—198.
- [5] 廖春燕、赵善欢: 川楝素对粘虫幼虫拒食作用研究, 《华南农业大学学报》, (1) 1986: 1—6.
- [6] Antonious, A. G. and T. Saito 1983 Mode of action of antifeeding compounds in the larvae of the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (F.) (Lepidoptera, Noctuidae): II Sensory responses of the larval chemoreceptors to Chlordimeform and Clerodjin. *Appl. Ent. Zool.* 18: 40—49.
- [7] De Bore, G et al 1977 Chemoreceptors in the preoral cavity of the tobacco horn worm *Manduca sexta* and their possible function in feeding behaviour. *Ent. Exp. Appl.* 21: 287—298.
- [8] Hamamura, Y. 1959 Food selection by silkworm larva. *Nature* 183: 1746—1747.
- [9] Ishikawa, S. 1966 Electrical response and function of a bitter substance receptor associated with the maxillary sensilla of the larvae of the silkworm, *Bombyx mori* L. *J. Cell Physiol.* 67: 1—11.
- [10] Ma, W. C. 1976 Mouth-Parts and receptors involved in feeding behaviour and sugar perception in the African armyworm, *Spodoptera exempta* (Lepidoptera, Noctuidae). In: *The Host-Plant in Relation to Insect Behaviour and Reproduction*, (T. Jermy, Ed.) 139—151. New York, Plenum Press.
- [11] Ma, W. C. 1977 Alterations of Chemoreceptor function in armyworm larvae (*Spodoptera exempta*) by a plant derived sesquiterpenoid and by sulphhydryl reagents. *Physiological Entomology* 2: 199—207.
- [12] Schoonhoven, L. M. 1972 Plant recognition by lepidopterous larvae. *Symp. Roy. Ent. Soc. Lond.* NO. 6 P87—99.
- [13] Vallee, B. L. & J. F. Riordan 1969 Chemical approaches to the properties of active sites of enzymes. *A. Rev. Biochem.* 38: 733—794.
- [14] Waldbauer, G. P. & G. Fraenkel 1961 Feeding on normally rejected plants by maxillectomized larvae of the tobacco hornworm, *Protoparce sexta* (Lepidoptera, Sphingidae). *Ann. Ent. Soc. Am.* 54: 477—485.

OBSERVATION ON THE CEPHALIC SENSORY ORGAN OF THE
ORIENTAL ARMYWORM WITH SCANNING ELECTRON-
MICROSCOPE AND THE ANTIFEEDANT
ACTIVITIES OF TOSENDANIN

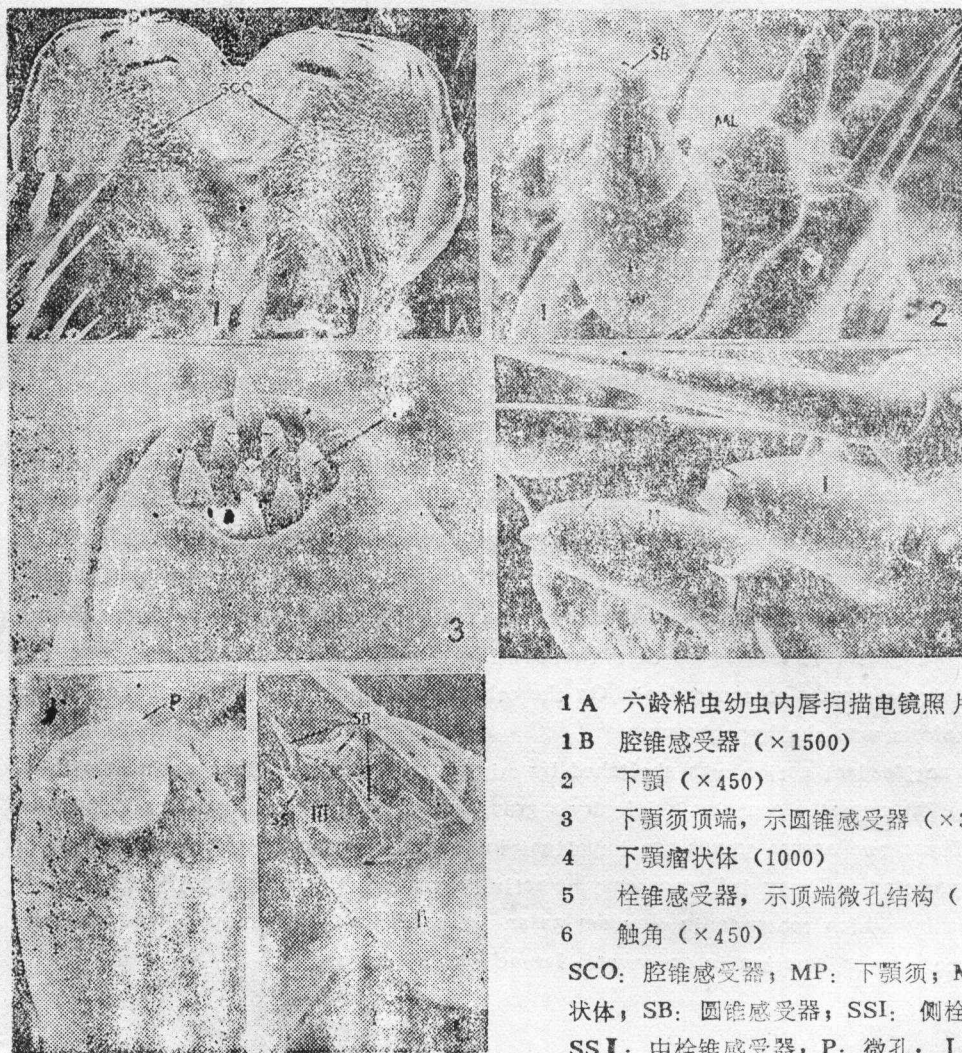
Liao Chunyan Lin Siuking

(Department of Plant Protection)

ABSTRACT

By observation with scanning electronmicroscope, it was found that epipharynx of larvae of the oriental armyworm has two pairs of chemoreceptive structures. The morphological characteristics of maxillae are similar as those of other lepidopterous larvae. when toosendanin was topically applied by means of microsyringe at the various points of the mouthparts, it was found that the maxillary palpi and maxilla lobe were the most sensitive targets to toosendanin. On the other hand, the primary site of action of chlordimeform was the hypopharynx.

The antifeedant action was abolished by mixing toosendanin with cystein or dithiothreitol. The cysteine contains sulphydryls group and dithiothreitol contains disulfides group. These two acture groups are important in the maintenance of the conformation of certain proteins and may influence enzyme activity yor membrane permeadility. The mode of action by which toosendanin may act as an-SH receptor and thereby markedly alters the chemoreceptor function in armyworm larvae was discussed.



1 A 六龄粘虫幼虫内唇扫描电镜照片 ($\times 150$)

1 B 腔锥感受器 ($\times 1500$)

2 下颚 ($\times 450$)

3 下颚须顶端, 示圆锥感受器 ($\times 3000$)

4 下颚瘤状体 ($\times 1000$)

5 栓锥感受器, 示顶端微孔结构 ($\times 7000$)

6 触角 ($\times 450$)

SCO: 腔锥感受器; MP: 下颚须; ML: 下颚瘤状体; SB: 圆锥感受器; SSI: 侧栓锥感受器; SSI: 中栓锥感受器; P: 微孔; I、II、III: 第 I、II、III 节。