

# 荧光增白剂 FB28 对甜菜夜蛾围食膜形态的影响

王俊平 (青岛农业大学农学与植物保护学院, 山东青岛 266109)

**摘要** 用含有不同浓度荧光增白剂 FB28 的饲料饲喂 5 龄甜菜夜蛾幼虫, 解剖取其围食膜, 观察荧光增白剂 FB28 对围食膜的破坏状况。结果表明, 1% 荧光增白剂 FB28 处理 6 h 时, 甜菜夜蛾围食膜部分降解; 0.1% 荧光增白剂 FB28 处理 6 h 时, 甜菜夜蛾围食膜仅有微量食物外渗, 处理 10 h 时, 围食膜降解, 食物与围食膜混在一起。说明 1% 荧光增白剂 FB28 对甜菜夜蛾围食膜的破坏能力强于 0.1% 荧光增白剂 FB28。

**关键词** 甜菜夜蛾; 围食膜; FB28

中图分类号 Q969 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)12-05561-02

**Effect of Fluorescent Brightener FB28 on Peritrophic Membrane Morphology of *Spodoptera exigua***

**WANG Jun-ping** (Agriculture and Plant Protection College of Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109)

**Abstract** The diets with different concentration of fluorescent brightener FB28 was taken to feed 5 instar larvae of *S. exigua*. After that, the peritrophic membranes of *S. exigua* were taken to study the damage state of fluorescent brightener FB28 on peritrophic membranes. The results showed that when treated by 1% FB28 for 6 h, the peritrophic membranes of *S. exigua* partly degraded, and when treated by 0.1% FB28 for 6 h, little food in peritrophic membranes of *S. exigua* extravasated, when treated by 0.1% FB28 for 10 h, the peritrophic membranes degraded and mixed with food. That indicated that the damage effect of 1% FB28 on peritrophic membranes of *S. exigua* was stronger than that of 0.1% FB28.

**Key words** *Spodoptera exigua*; Peritrophic membrane; FB28

围食膜(peritrophic membrane, PM)是大多数昆虫肠细胞分泌的一层厚薄均匀的长管状薄膜,成圆桶状将肠腔和中肠壁细胞分开<sup>[1]</sup>。该薄膜具有选择透性,能够保护中肠上皮细胞,阻止病原物侵染等多种功能,是中肠细胞和肠腔之间的防御性屏障<sup>[2]</sup>。围食膜主要是由几丁质、蛋白多糖和蛋白质组成的网状结构,厚度一般为 0.5 nm,有的虫种可达 8~9 nm,由中肠前端一直延伸至后肠<sup>[3]</sup>。

荧光增白剂普遍应用于合成洗涤剂、纺织、造纸、塑料工业等,能通过氢键与 B 型纤维类聚合物相结合<sup>[4]</sup>。近年来,荧光增白剂对杆状病毒的增效作用引起人们的兴趣,荧光增白剂不仅能增强病毒的感染性,而且能有效保护病毒免受紫外线损伤,是一种很有潜力的杆状病毒增效因子。有关荧光增白剂的增效作用机制的研究不多,并存在分歧。一种观点认为荧光增白剂是通过破坏围食膜而达到对杆状病毒的增效作用<sup>[5]</sup>。Wang 等<sup>[6]</sup>研究了 Calcofluor 对围食膜的破坏作用,认为 Calcofluor 是几丁质结合物,能竞争性地结合到中肠新合成的几丁质上,从而阻止围食膜蛋白与几丁质结合,导致围食膜结构被破坏。另一种观点认为荧光增白剂通过阻止感染病毒的中肠上皮细胞脱落而达到增效作用。Washburn 等认为荧光增白剂阻止感染病毒的中肠上皮细胞脱落是增效的主要原因,而且其增效作用与组织被感染中肠细胞不脱落的能力成正比<sup>[7]</sup>。

甜菜夜蛾属鳞翅目夜蛾科昆虫,食性杂,分布广,近年此虫在我国发生趋于严重。因此采用荧光增白剂 FB28 处理甜菜夜蛾的围食膜,观察其形态变化,可为进一步开展甜菜夜蛾的生物防治提供理论依据。

## 1 材料与方

**1.1 材料及试剂** 甜菜夜蛾,28~60%~80%RH,每天光照 14 h 条件下人工繁育饲养。荧光增白剂 FB28 (Fluorescent brightener 28),属二苯乙烯类,购自 Sigma 公司。PBS 缓冲液:

在 800 ml 蒸馏水中溶解 8 g NaCl, 0.2 g KCl, 1.44 g Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 和 0.24 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>,用 NaOH 调节 pH 值至 7.4,再加蒸馏水定容至 1 000 ml,湿热高压灭菌 20 min,冷却后保存于 4℃ 冰箱备用。

## 1.2 方法

**1.2.1 荧光增白剂 FB28 饲喂昆虫。**分别用浓度为 1%、0.1% 的荧光增白剂 FB28 处理 5 龄甜菜夜蛾幼虫。将新鲜的饲料切成 20 mg 小块,放在 24 孔细胞培养板中,每块饲料加入 5 μl 各种浓度的 FB28 溶液并涂抹均匀,待幼虫取食完饲料后开始计时,此时更换无荧光增白剂 FB28 的饲料,饲喂 1、4、6、10、12、16 h 后分别剖取 PM,用数码相机拍照,记录甜菜夜蛾 PM 形态变化,以清水处理为对照。

**1.2.2 围食膜的制备。**取荧光增白剂 FB28 饲喂的甜菜夜蛾,显微镜下解剖剔除中肠取其 PM。并用 PBS 缓冲液清洗 PM。为了便于观察 PM 被 FB28 的破坏情况,保留食物残渣在 PM 内。解剖后用数码相机拍照,观察并记录 PM 颜色和形态学特征。

## 2 结果与分析

**2.1 未饲喂荧光增白剂 FB28 甜菜夜蛾 PM 的形态** 未饲喂 FB28 甜菜夜蛾的 PM 是一层厚薄均匀的长管状薄膜,由中肠前端一直延伸至后肠,呈圆桶状将肠腔和中肠壁细胞分开,表面光滑致密,富有弹性和韧性,易于清洗至无色透明。同哺乳动物的胃、肠粘膜类似,具有较大的抗拉强度和类凝胶特性,可保护中肠细胞免受食物中固体颗粒擦伤,也可能具有润滑作用,利于食物通过中肠(图 1)。

**2.2 饲喂 1% 荧光增白剂 FB28 甜菜夜蛾 PM 的形态** 用含 1% FB28 的饲料喂食甜菜夜蛾 1 h, PM 结构完整,表面均匀光滑,有极强的韧性,与正常 PM 无差异,散射光下可见 PM 呈现蓝紫色荧光。因荧光增白剂可反射可见光,同时吸收日光中的紫外光(其最大紫外吸收波长为 350 nm 左右),发射 415~466 nm 波长的蓝紫色荧光。1% FB28 饲料喂食 4 h 时,甜菜夜蛾的 PM 形态变化不明显,食物没有发生外渗现象,PM 仍呈现蓝紫色荧光;喂食 6 h 时甜菜夜蛾的 PM 形态变化明显,弹性较喂食 4 h 时差,无菌 PBS 清洗 PM 时较困难,PM

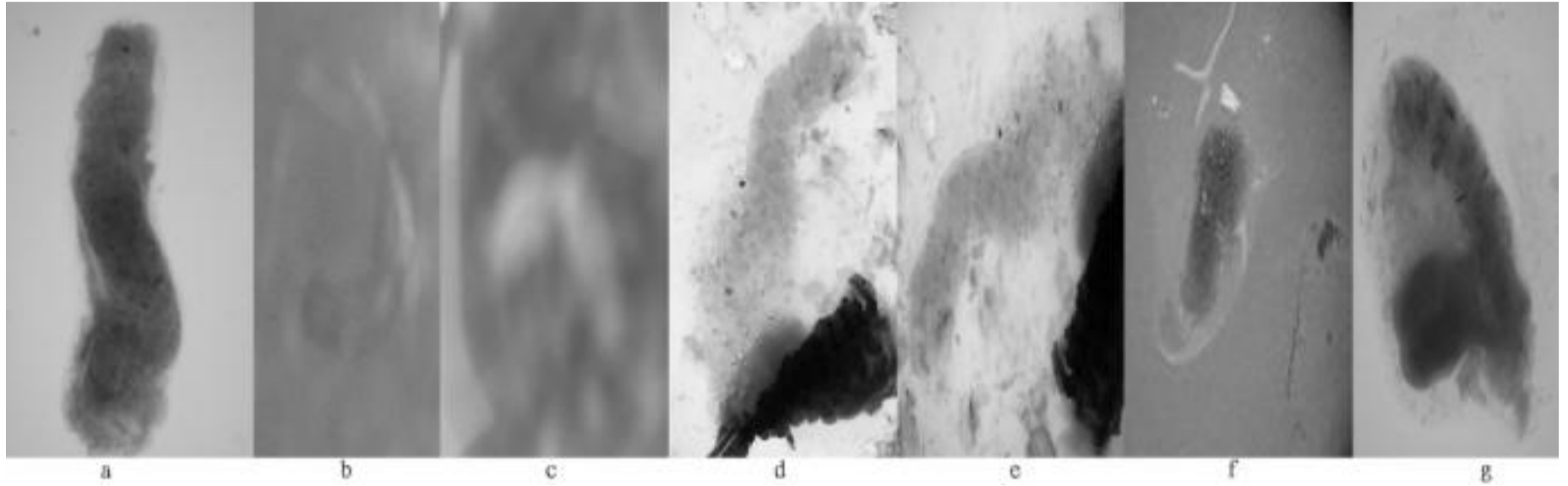
**作者简介** 王俊平(1976-),女,河北沧州人,讲师,从事农业昆虫和害虫防治研究。

收稿日期 2009-01-12

部分解离与食物混在一起;喂食12 h 时食物微量通过围食膜外渗, 无菌PBS 清洗PM时PM弹性变弱, 喂食16 h 后PM形态恢复完整, 食物不发生外渗现象, 但PM弹性仍弱于未饲喂FB28 甜菜夜蛾的PM(图1)。

**2.3 饲喂0.1%荧光增白剂FB28 甜菜夜蛾PM的形态** 用含0.1% FB28 的饲料喂食甜菜夜蛾1 h, PM结构完整, 表面均匀光滑, 有极强的韧性, 与正常PM无差异, 散射光下可见

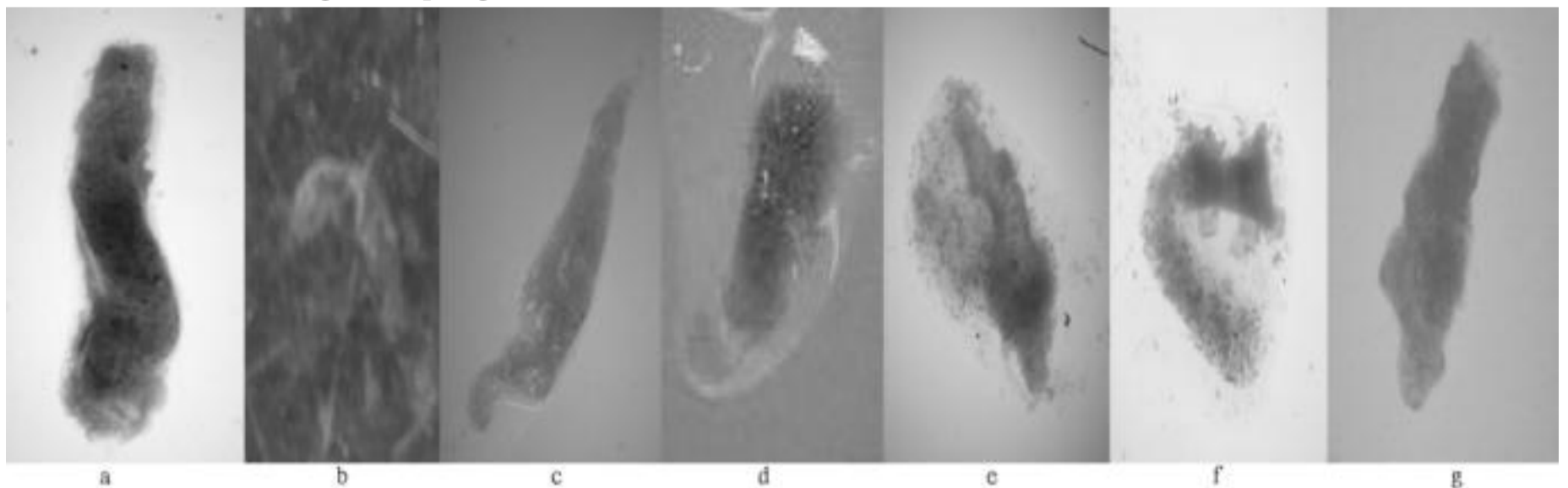
PM呈现蓝紫色荧光。喂食6 h 时甜菜夜蛾PM外观形态破坏不明显, 食物微量外渗; 喂食10 h 时甜菜夜蛾PM完全解离, 与食物混在一起呈絮状; 喂食12 h 时食物不能通过围食膜外渗; 喂食16 h 后PM不解离, 外观形态恢复完整, 食物不发生外渗现象, PM弹性弱于未饲喂FB28 甜菜夜蛾的PM, 但强于饲喂1% FB28 甜菜夜蛾的PM(图2)。



注:a: 清水处理;b: 1%FB28 处理1 h;c: 1%FB28 处理4 h;d: 1%FB28 处理6 h;e: 1%FB28 处理10 h;f: 1%FB28 处理12 h;g: 1%FB28 处理16 h。  
Note :a. Treated with clear water ; b. 1%FB28 treating an hour ; c. 1%FB28 treating 4 hours ; d. 1%FB28 treating 6 hours ; e. 1%FB28 treating 10 hours ; f. 1%FB28 treating 12 hours ; g. 1%FB28 treating 16 hours .

图1 1%FB28 活体处理甜菜夜蛾PM的形态学观察

Fig.1 Morphological observation of *Spodoptera exigua* PMs with 1% FB28 in vivo treatment



注:a: 清水处理;b: 0.1%FB28 处理1 h;c: 0.1%FB28 处理4 h;d: 0.1%FB28 处理6 h;e: 0.1%FB28 处理10 h;f: 0.1%FB28 处理12 h;g: 0.1%FB28 处理16 h。

Note :a. Treated with clear water ; b. 0.1%FB28 treating an hour ; c. 0.1%FB28 treating 4 hours ; d. 0.1%FB28 treating 6 hours ; e. 0.1%FB28 treating 10 hours ; f. 0.1%FB28 treating 12 hours ; g. 0.1%FB28 treating 16 hours .

图2 0.1%FB28 活体处理甜菜夜蛾PM的形态学观察

Fig.2 Morphological observation of *Spodoptera exigua* PMs with 0.1% FB28 in vivo treatment

### 3 结论与讨论

该研究结果表明, 荧光增白剂FB28 对甜菜夜蛾PM结构的破坏是暂时的, 且低浓度FB28 对PM的破坏性较小, 而高浓度FB28 对PM的破坏性较强。甜菜夜蛾取食含有FB28 的饲料后, FB28 逐渐结合到PM的几丁质上; 更换不含有FB28 的饲料后, PM不断形成, 逐渐替代被破坏的PM部分, 新形成的PM具有完整的致密结构。

甜菜夜蛾为间歇性大发生害虫, 食性杂, 可危害138种植物, 幼虫为害甘蓝、白菜、芹菜、大葱、生姜、辣椒等多种蔬菜及玉米、大豆等粮食作物。近年来, 甜菜夜蛾为害猖獗, 造成的经济损失较大, 且该害虫容易对化学农药产生抗药性<sup>[8]</sup>。利用甜菜夜蛾核型多角体病毒制剂防治甜菜夜蛾, 可

改变滥用化学农药的状况, 减少残毒, 保护天敌, 促进自然抑制能力的发挥和降低虫口密度。荧光增白剂FB28 可破坏昆虫的围食膜, 增大杆状病毒对甜菜夜蛾的感染性。

该试验仅从外观形态方面描述了荧光增白剂FB28 对甜菜夜蛾围食膜的破坏情况。而要想全面了解荧光增白剂对甜菜夜蛾围食膜的破坏作用, 还需从生物化学方面开展进一步研究。

#### 参考文献

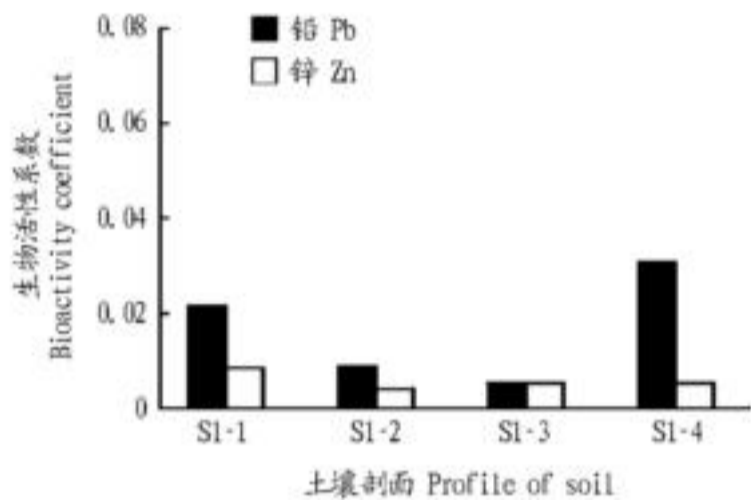
- [1] 蒲蛰龙. 昆虫病理学[M]. 广州: 广东科学技术出版社, 1992: 179-186.
- [2] PETERS W. Retriptive membranes. Zoophysiology series[M]. Berlin: Springer, New York: Hiddberg, 1992: 238.
- [3] 相静波, 刘惠霞, 吴文君. 昆虫围食膜的研究进展[J]. 昆虫知识, 2004, 41(2): 116-122.

(下转第5616页)

**2.3 生物活性评价** 在评价土壤重金属污染状况时,不仅要分析土壤重金属总量,更应重视其生物有效性部分所占的比例。笔者采用生物活性系数  $K^{[11]}$  评价土壤重金属的生物有效性,计算公式:

$$K = \frac{\text{离子交换态} + \text{碳酸盐结合态}}{\text{形态含量加和}} \\ = \frac{F_1 + F}{F + F + F + F + F}$$

由于土壤中铜的可交换态和碳酸盐结合态含量都非常低,接近零,此处重点讨论铅和锌的生物活性。由图3可见,2组土壤铅和锌的生物活性都偏低,总体而言,重金属的活动性不好,其生物可利用性低,对环境危害小。这可能与土壤pH值有关,有研究表明,土壤pH值越低,重金属的生物活性



越高<sup>[12-14]</sup>。而该研究中的8件样品,pH值均偏碱性(表1),说明土壤重金属的生物有效性受到土壤pH值的制约,pH值越高,不仅对生态系统没有危害,而且对重金属具有一定的固定化作用,即残渣态和铁锰氧化物结合态占优势,与前面重金属形态分布分析结果吻合。

同时,发现下游废水灌溉土(S2组)重金属生物活性大于上游尾矿砂堆积土(S1组),尽管S1的重金属含量远高于S2,但是其生物可利用性低,可见矿区下游土壤的潜在危害性高于上游。铅的生物活性明显大于锌,最大值为S2-4,达0.077。在S2组土壤中,铅的K值随着深度的增加而剧增,表明铅在土壤中具有向下移动的能力,深部土壤比表层土壤对植物的危害性更高。

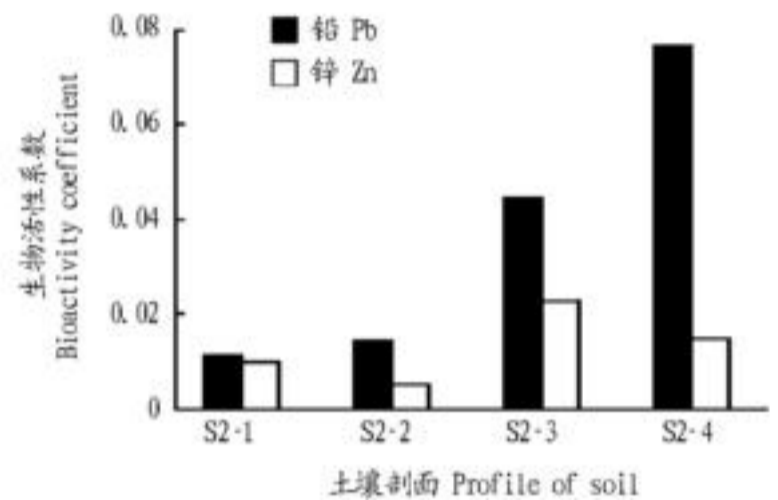


图3 土壤重金属的生物活性

Fig.3 Bioavailability of heavy metals in soils

### 3 结论

(1) 土壤中铜、铅和锌的全量基本未超出国家土壤环境质量二级标准,矿山开采活动尚未对外围农田耕地造成污染。

(2) Tessier连续提取法能够有效地提取土壤重金属的5种不同形态。研究区土壤铜、铅、锌的残渣态是主要存在形态,其次是铁锰氧化物结合态和有机物结合态,碳酸盐结合态很少,可交换态最低,说明这些重金属在正常自然条件下相对比较稳定。不同元素在不同土壤类型和不同土壤层位的形态分布有很大差别。

(3) 这3种元素的生物活性均偏低,其中铅 > 锌 > 铜,生物可利用性不高,对生态环境危害性小,但下游废水灌溉土的重金属生物活性大于上游尾矿砂堆积土,因此有必要采取有效措施控制废水的排放。

#### 参考文献

- [1] 刘恩玲,王亮.土壤中重金属污染元素的形态分布及其生物有效性[J].安徽农业科学,2006,34(3):547-549.
- [2] 杨红飞,严密,王友保,等.安徽主要水稻土中重金属形态分布与土壤酶活性研究[J].土壤,2007,39(5):753-759.
- [3] 刘英霞,杨启霞,常显波.烟台市污水处理厂污泥中重金属的形态分析

(上接第5562页)

#### 参考文献

- [4] MAEDA H,SHIDA NJ.Specificity of binding of hexopyranosyl polysaccharides with fluorescent brightener[J].J Biochem,1967,62:276-278.
- [5] SHAIRO M.Use of optical brightener as radiation protectants for gypsy moth (Lepidoptera:Lymantidae) nuclear polyhedrosis virus[J].J Econ Entomol, 1992,85(5):1682-1686.
- [6] WANG P,GRANADOS R R.Calcium disrupts the midgut defense system in

[J].安徽农业科学,2008,36(27):11977-11979.

- [4] 李梦红,黄现民,诸葛玉平.污泥农用对土壤中各形态重金属含量变化的影响[J].安徽农业科学,2008,36(23):10156-10158.
- [5] 宋明义,刘军保,周涛发,等.杭州城市土壤重金属的化学形态及环境效应[J].生态环境,2008,17(2):666-670.
- [6] 国家环境保护局.GB15618-1995,土壤环境质量标准[S].1996.
- [7] JONES B,TURK A.Distribution and speciation of heavy metals in surficial sediments from the Tese Estuary,north east England[J].Science of the Total Environment,1997,31:1295-1301.
- [8] MA L Q,RAO G N.Chemical fractionation of cadmium,copper,nickel,and zinc in contaminated soils[J].Journal of Environmental Quality,1997,26:259-264.
- [9] RAMOS L,GONZALEZ MJ,HERNANDEZ L M.Sequential extraction of copper,lead,cadmium,and zinc in sediments from Ebro river (Spain): relationship with levels detected in earthworms[J].Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology,1999,62:301-308.
- [10] GIMENO GARCIA E,ANDREU V,BOLUDA R.Distribution of heavy metals in rice farming soils[J].Archives of Environmental Contamination and Toxicology,1995,29:476-483.
- [11] ADRIANO D C.Trace elements in terrestrial environments:Biogeochemistry, bioavailability and risks of metals[M].2nd Edn.New York:Springer,2001.
- [12] SHU WS,YE Z H,LAN C Y,et al.Acidity of lead-zinc mine tailings and its effect on heavy metal mobility[J].Environment International,2001,26(5/6):389-394.
- [13] 王庆仁,刘秀梅,崔岩山,等.我国几个工矿与污灌区土壤重金属污染状况及原因探讨[J].环境科学学报,2002,22(3):354-358.
- [14] 周建民,党志,司徒粤,等.大宝山矿区周围土壤重金属污染分布特征研究[J].农业环境科学学报,2004,23(6):1172-1176.

insects [J]. Insect Biochem Mol Biol,2000,30:135-143.

- [7] WASHBURN J O,KIRKPATRICK B A,HAAS STAPLETON E,et al.Evidence that the stilbene-derived optical brightener M2 enhances autographa californica M nucleopolyhedrovirus infection of trichoplusia and Heliothis virescens by preventing sloughing of infected midgut epithelial cells[J].Biological Control, 1998,11:58-69.
- [8] 张彬,刘怀,王进军,等.甜菜夜蛾研究进展[J].中国农学通报,2008,24(10):427-433.