

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2023.04.010

# 3 种外源因子对家蚕围食膜结构及功能的影响

周沂, 陈林, 张玉琴, 谭婷婷, 冯丽春

西南大学 蚕桑纺织与生物质科学学院, 重庆 400715

**摘要:** 研究 3 种外源因子(荧光增白剂 FB28、凝集素和灭幼脲)对家蚕围食膜结构、通透性和围食膜蛋白的影响. 利用 Thermo Scientific Quattro 环扫电镜观察围食膜表面结构, 尤斯灌流室测量围食膜对不同葡聚糖分子(180 D, 5 kD, 40 kD, 110 kD, 2 000 kD)的透过性, 利用蛋白质谱检测围食膜蛋白的变化. 结果表明: 荧光增白剂 FB28、凝集素和灭幼脲均对家蚕围食膜结构和功能有一定影响, 但围食膜形态、表面结构和通透性改变程度有所不同. 凝集素使围食膜中部增厚, 48 h 时观察到膜内表面有球形的电子致密结构, 通透性显著增大; 灭幼脲处理后, 围食膜多层结构异常, 层与层之间变得疏松, 皱褶增多, 通透性降低; 荧光增白剂 FB28 对围食膜的破坏最为迅速和剧烈, 添食 4 h 时围食膜能透过 2 000 kD 的葡聚糖分子, 6 h 后围食膜基本消失. 对荧光增白剂 FB28 处理后的围食膜进行 SDS-PAGE 电泳检测发现, 在 2 h 和 4 h 时蛋白条带与对照组相比差异有统计学意义. 质谱分析结果表明: 处理后的围食膜新增了与免疫(Apolipoprotein III, Beta-1, 3-glucanase)、昆虫生殖能力和抗逆能力(Methuselah-like protein 5)和蛋白质结合(60s ribosomal export protein NMD3)相关的 12 种蛋白.

**关键词:** 家蚕; 围食膜; 增效因子; 结构; 通透性

**中图分类号:** S881 **文献标志码:** A

**文章编号:** 1673-9868(2023)04-0102-08

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



## Effects of Three Exogenous Factors on the Structure and Function of Silkworm Peritrophic Matrix

ZHOU Yi, CHEN Lin, ZHANG Yuqin,  
TAN Tingting, FENG Lichun

College of Sericulture, Textile and Biomass Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China

**Abstract:** To study the effects of fluorescent brightener FB28, wheat germ agglutinin, and diflubenzuron on the structure, permeability and protein of the peritrophic matrix (PM) of silkworm *Bombyx mori*, the environmental scanning electron microscope was used to observe the surface structure of the PM. A Using chamber was used to measure the permeability of the PM to dextrans of different molecular weights (180 D, 5 kD, 40 kD, 110 kD, 2 000 kD). We used protein mass spectrometry to detect the changes of

收稿日期: 2021-07-04

基金项目: 商务部蚕丝产业技术转化服务项目(TXJ-010-2017212).

作者简介: 周沂, 硕士研究生, 主要从事家蚕围食膜的形成研究.

通信作者: 冯丽春, 副教授, 硕士研究生导师.

PM proteins. The results show that Fluorescent brightener FB28, wheat germ agglutinin, and diflubenzuron affected the structure and function of the PM of silkworms, but their effects on morphology, surface structure, and permeability of the PM were different. Wheat germ agglutinin thickened the middle part of the PM. Spherical electron-dense structures were observed on the inner surface of the matrix, and the permeability was significantly increased at 48 h. After treatment with diflubenzuron, the multilayer structure of PM was abnormal, the layers became loose with increased folds, and the permeability decreased. FB28 was most rapid and severe agent to destroy the PM. The PM was permeable to dextrans of 2 000 kD at 4 h after feeding, and PM disappeared at 6 h after feeding. SDS-PAGE electrophoresis showed that there were differences in protein bands between the treatment group and the control group at 2 h and 4 h. The results of mass spectrometry showed that 12 new proteins related to immunity (apolipophorin-III, beta-1, 3-glucosamine), insect reproductive capacity and stress resistance (Methuselah like protein 5) and protein binding (60s ribosomal export protein NMD3) presented in the PM after treatment.

**Key words:** silkworm; peritrophic matrix; synergistic factor; structure; permeability

围食膜(Peritrophic matrix, PM)位于昆虫中肠最内侧,是由中肠上皮细胞和贲门瓣基部细胞分泌的非细胞结构的薄膜,主要由几丁质与蛋白质构成<sup>[1]</sup>,是中肠抵御随食物摄入的病原及药物的第一道天然屏障,也是害虫防治的重要切入点之一<sup>[2]</sup>。多种农药增效因子如昆虫病毒增效蛋白、几丁质酶、荧光增白剂和外源凝集素等通过与围食膜上特异位点的结合,可破坏围食膜结构,促进病原微生物对害虫的感染<sup>[3-6]</sup>,从而达到杀灭害虫的目的。增效因子作用于围食膜在害虫防治方面成为研究热点,在多种鳞翅目昆虫中已有报道<sup>[7-8]</sup>。Zimmermann等<sup>[9]</sup>研究发现,荧光增白剂 Calcofluor 能够显著增强围食膜的通透性;朱蓉等<sup>[10]</sup>用荧光增白剂 M2R 处理甜菜夜蛾、草地螟幼虫,发现围食膜消失,且围食膜中几丁质结合蛋白的含量受到影响。

几丁质合成抑制剂和几丁质合成酶抑制剂能阻止昆虫围食膜基质的形成,其中灭幼脲类杀虫剂已成为创制新农药的一个非常活跃的领域,灭幼脲对一些害虫(如黏虫、黄粉蚜幼虫)的毒理作用和防治效果已有报道<sup>[11]</sup>。龚国玑等<sup>[12]</sup>在灭幼脲对小地老虎、黏虫及黄粉蚜幼虫内部器官和组织的作用研究中,提出“经灭幼脲处理后,含几丁质组分的体壁表皮层、气管壁内膜和中肠围食膜等组织,部分出现明显可辨的组织学改变和病理症状”。灭幼脲对家蚕的影响仅停留在毒性试验<sup>[13-14]</sup>和中毒症状<sup>[15]</sup>的研究上,对围食膜通透性和结构的影响方式和程度还未见报道。除此之外,Harper<sup>[16]</sup>在凝集素对欧洲玉米螟(ECB)幼虫围食膜影响的研究中发现,经 WGA 处理后,幼虫围食膜孔隙变大,能穿透杆菌,且在扫描电镜下观察到“无定型、球形的电子致密结构”。

尤斯灌流室(Ussing Chamber)技术能在离体情况下模拟胃肠道生理环境<sup>[17]</sup>,早期用于研究上皮组织的离子转运,但在围食膜通透性的应用研究上还未见报道。Spence等<sup>[18]</sup>在研究通透性时提出双室设备,Peng等<sup>[19]</sup>在研究杆状病毒对围食膜的作用时,对该装置进行了改进。本研究以鳞翅目模式生物家蚕(*Bombyx mori* L.)为研究对象,通过添食荧光增白剂 FB28、凝集素和灭幼脲,观察家蚕围食膜在不同处理下的形态和结构变化,应用尤斯灌流室技术在体外测定不同处理后围食膜通透性的变化,结合蛋白质谱分析围食膜蛋白的变化,探究这些农药增效因子对围食膜结构、功能和成分的影响,为围食膜作为害虫防治靶标提供依据,同时也为增效因子的应用和新型农药的开发提供参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料及仪器

供试蚕种“871”由重庆市蚕业科学技术研究院提供。荧光增白剂 FB28,凝集素(WGA),sigma 公司;灭幼

脲(Diflubenzuron), 河南安林生物化工有限责任公司; 蓝色葡聚糖(180 D, 5 kD, 40 kD, 110 kD, 2 000 kD), 瑞典 TDBcons 公司.

尤斯灌流室(C4300), 北京金工鸿泰科技有限公司, 样本夹型号 P2303A, 开孔 2.67 mm×3.95 mm, 面积 0.1 cm<sup>2</sup>, 带固定别针.

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 药物处理方法

1%荧光增白剂 FB28, 0.05%凝集素采用点涂法均匀涂抹在桑叶上, 25%灭幼脲用无菌水稀释 1 000 倍浸渍桑叶, 均自然晾干后饲喂 5 龄的家蚕 2 d.

### 1.2.2 形态及表面结构观察

在处理不同时间剖取家蚕 PM, 拍照记录 PM 形态学特征, Thermo Scientific Quattro 环扫电镜下直接观察表面结构.

### 1.2.3 通透性测定

将取出的 PM 纵向剖开, 用蒸馏水轻轻冲洗干净后裁取 PM 中部约 0.5 cm<sup>2</sup> 的小块固定于样本夹上, 加入同体积葡聚糖溶液和蒸馏水于样本夹两侧腔室内, 一段时间后取少量测吸光值, 每个样品取 3 个不同时间点, 对照葡聚糖标准曲线, 计算表观渗透系数.

### 1.2.4 SDS-PAGE 电泳

取各时期蛋白质样品 20 μg 分别加入 5 倍上样缓冲液, 配制 5%浓缩胶和 12%分离胶进行 SDS-PAGE 电泳, 初始电压 80 V. 当溴酚蓝条带泳动至浓缩胶与分离胶的界限处时, 将电压调至 120 V; 当溴酚蓝条带泳动至凝胶下缘时结束电泳. 用 BeyoBlue 考马斯亮蓝快速染色, 拍照观察, 切下差异条带进行质谱.

### 1.2.5 蛋白质谱分析

1.2.5.1 供试品酶解: 供试品经过还原和烷基化处理后, 加入 Trypsin(质量比 1:50), 在 37 °C 下酶解 20 h. 酶解产物脱盐后冻干, 复溶于 0.1%甲酸溶液中, -20 °C 保存待用.

1.2.5.2 质谱分析: A 液为 0.1%甲酸的水溶液, B 液为 0.1%甲酸的乙腈水溶液(乙腈为 84%). 色谱柱以 95%的 A 液平衡后, 样品由自动进样器上样至 Trap 柱, 1 h 梯度.

1.2.5.3 质谱数据采集: 多肽和多肽碎片的质量电荷比按每次全扫描后采集 20 个碎片图谱.

1.2.5.4 数据分析: 质谱测试原始文件用 Mascot 2.2 软件检索相应的数据库, 最后得到蛋白质鉴定结果.

## 2 结果与分析

### 2.1 添食荧光增白剂 FB28、凝集素和灭幼脲对家蚕围食膜形态结构的影响

#### 2.1.1 正常围食膜(PM)的形态结构

家蚕正常的 PM 是一层厚薄均匀的长管状薄膜, 由中肠前端延伸至后肠, 将肠腔和中肠上皮细胞层分开, 富有弹性, 易于清洗至无色透明. 环扫电镜观察表明, PM 内表面(肠腔侧)结构光滑致密, 有一些细小皱褶(图 1a).

#### 2.1.2 荧光增白剂 FB28(以下简称 FB28)对围食膜形态结构的影响

FB28 添食后 1 h, PM 结构完整, 表面均匀光滑, 有韧性, 与正常 PM 无异; 2 h 时 PM 结构仍相对完整, 但前端在散射光下可见蓝紫色荧光; 添食 4 h 后, 食物外渗, PM 碎片化, 韧性差, 碎片呈现蓝紫色荧光; 6 h 后 PM 基本消失、解离, 与食物混在一起, 家蚕拒食. 改喂正常新鲜桑叶, 24 h 后 PM 重新形成, 但韧性较差, 用无菌 PBS 冲洗即成碎片; 48 h 后 PM 重新恢复完整(图 2). 环扫电镜观察表明, FB28 添食 4 h 时 PM 内表面不光滑, 结构不再致密有序, 表面附着很多 PM 碎片, 2 000 倍数下能观察到表面有 1.4 μm 左右的圆形凸起(图 1b).



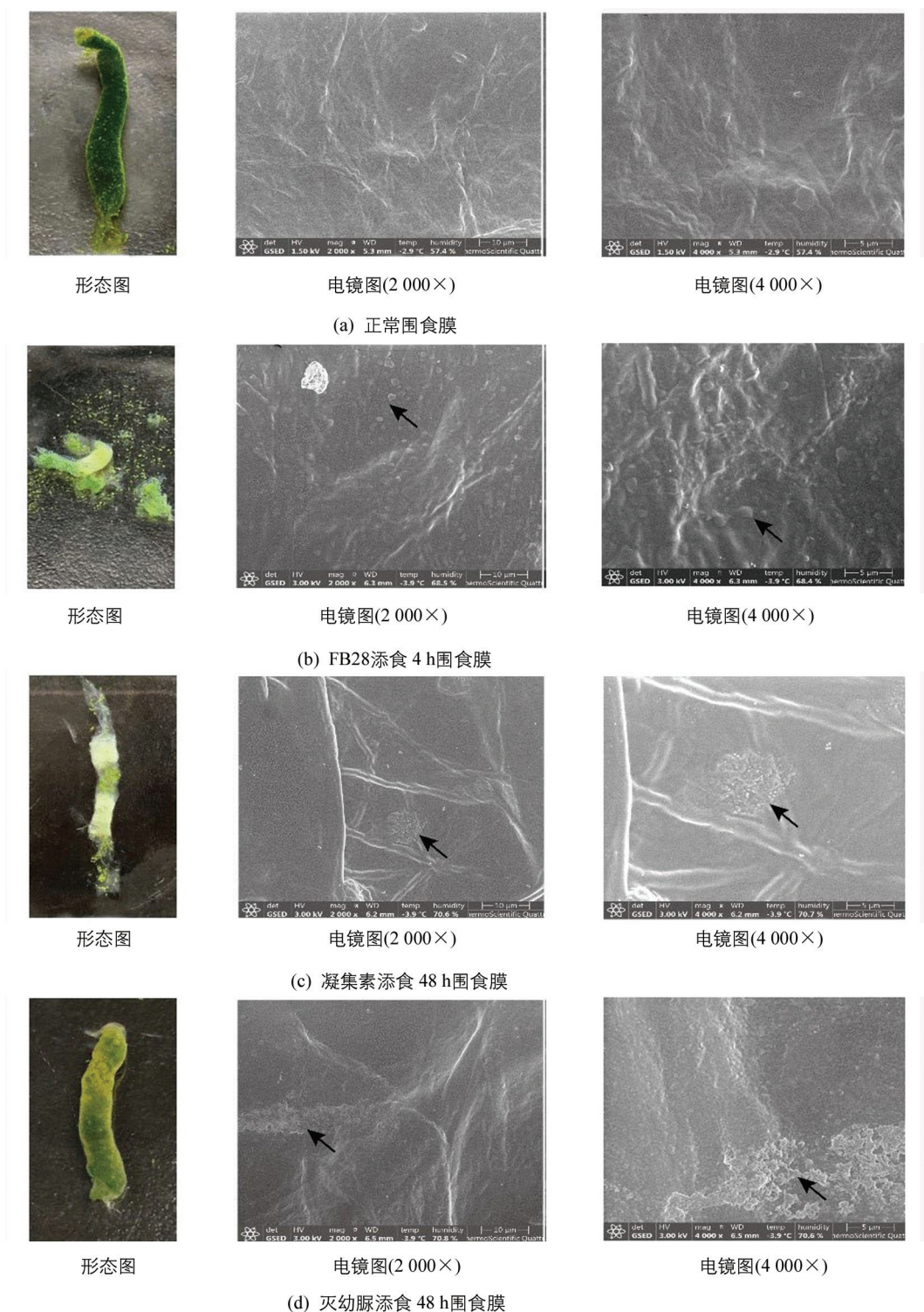


图 1 3 种外源因子添食后家蚕围食膜的形态学和电镜观察

### 2.1.3 凝集素对围食膜形态结构的影响

凝集素添食后, 24 h 时 PM 外观与正常组无异, 48 h 能观察到部分 PM 内部食物减少, 厚度不均一, 中部增厚. 环扫电镜观察发现 PM 表面形成异常的无定型的、球形的电子致密结构, 聚集成数个集团, 4 000 倍数下能观测到每个球形凸起大小约 300 nm(图 1c).

### 2.1.4 灭幼脉对围食膜形态结构的影响

灭幼脉添食后 2~3 h 蚕体即表现出中毒症状, 家蚕发生咀嚼障碍、拒食. 24 h, 48 h 均观察到围食膜

肠腔侧出现气泡,解剖过程中发现围食膜与正常对照组相比差异明显,对其进行刚果红染色观察,发现围食膜多层结构异常,层与层之间变疏松、皱褶增多(图 3). PM 内食物堆积、不易漂洗、消化液变浑浊. 环扫电镜观察显示,PM 出现横向的结构紊乱带,表面有附着物,凹凸不平(图 1d).

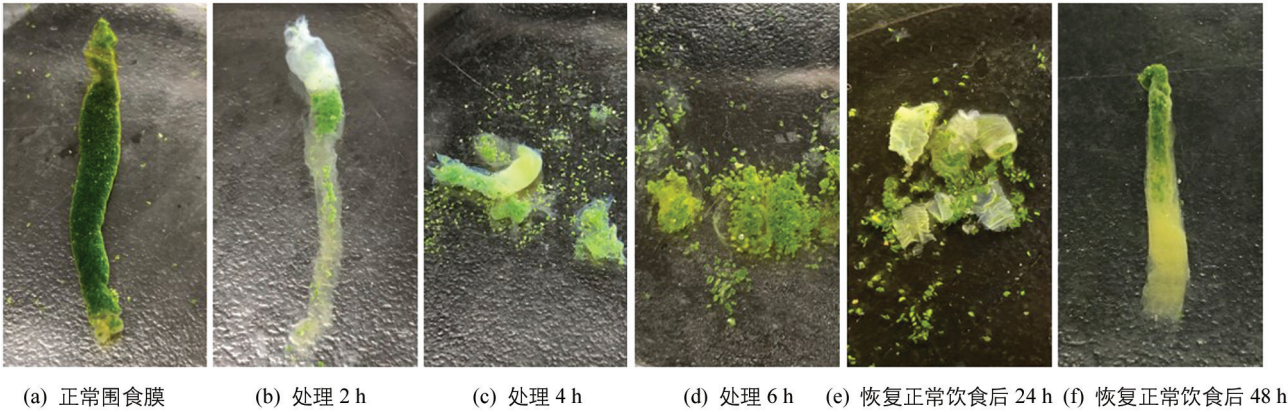


图 2 FB28 添食后家蚕围食膜形态变化

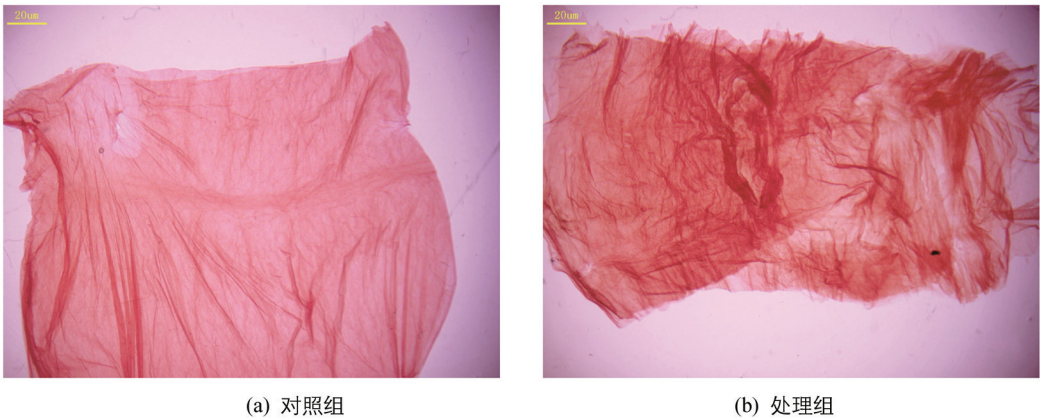


图 3 灭幼脉处理后围食膜的刚果红染色图

2.2 围食膜通透性的变化

2.2.1 不同处理后围食膜能透过的最大分子量

测量不同处理后围食膜对 5 种分子量(180 D, 5 kD, 40 kD, 110 kD, 2 000 kD)葡聚糖的透过性,结果表明:正常对照组的围食膜能通过 40 kD 分子,荧光增白剂 FB28 处理后,能透过 2 000 kD 分子,凝集素处理后围食膜最大能透过 110 kD 分子,而灭幼脉处理后能透过最大分子依然为 40 kD(表 1).

表 1 不同处理后围食膜对不同大小葡聚糖的透过性

|          | 对照组 | 荧光增白剂 FB28 | 凝集素 | 灭幼脉 |
|----------|-----|------------|-----|-----|
| 180 D    | +   | +          | +   | +   |
| 5 kD     | +   | +          | +   | +   |
| 40 kD    | +   | +          | +   | +   |
| 110 kD   | —   | +          | +   | —   |
| 2 000 kD | —   | +          | —   | —   |

注: + 为可透过, — 为不可透过.

2.2.2 各处理在不同时间对不同大小葡聚糖分子的透过性

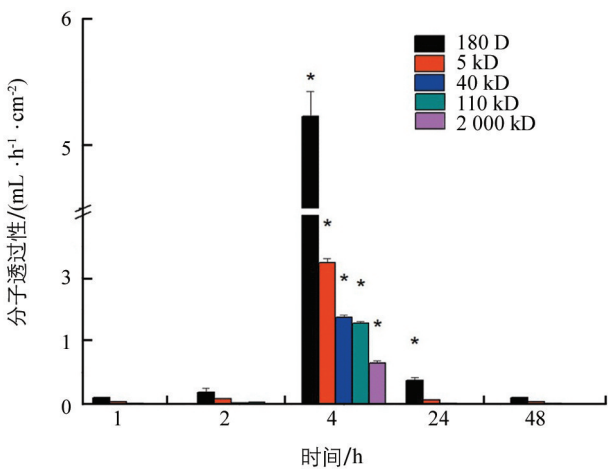
荧光增白剂 FB28 处理后,2 h 左右 PM 通透性开始增大,4 h 时对 180 D 分子的透过性增大到



5.231 mL/(h·cm<sup>2</sup>), 对 2 000 kD 分子的透过性为 0.65 mL/(h·cm<sup>2</sup>). 6 h 时已不能取到相对完整的 PM. 改喂正常桑叶后 PM 通透性又逐渐降低, 48 h 后恢复正常(图 4).

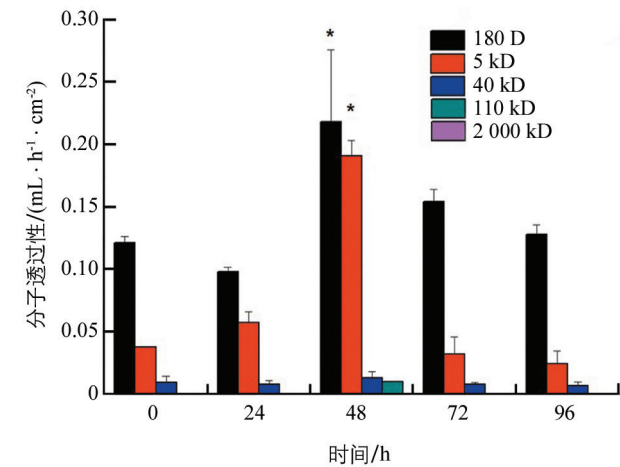
凝集素处理后, PM 通透性先略降低后升高, 48 h 时通透性显著增大, 对 180 D 分子透过性增大到 0.218 mL/(h·cm<sup>2</sup>); 能透过的最大分子为 110 kD, 透过性为 0.009 8 mL/(h·cm<sup>2</sup>). 72 h 后又逐渐降低恢复至正常, 始终不能透过 2 000 kD 分子(图 5).

灭幼脉处理后, 家蚕 PM 通透性降低, 72 h 时对 180 D 分子透过性由 0.11 mL/(h·cm<sup>2</sup>)降为 0.074 mL/(h·cm<sup>2</sup>), 对 40 kD 分子的透过性由 0.009 2 mL/(h·cm<sup>2</sup>)降至 0.003 7 mL/(h·cm<sup>2</sup>) (图 6).



\* 表示  $p<0.05$ , 差异有统计学意义.

图 4 FB28 处理后不同时间围食膜对不同分子的透过性



\* 表示  $p<0.05$ , 差异有统计学意义.

图 5 凝集素处理后不同时间围食膜对不同分子的透过性

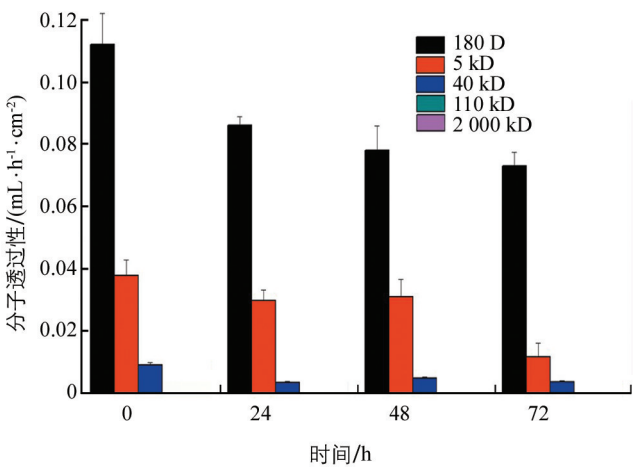


图 6 灭幼脉处理后不同时间围食膜对不同分子的透过性

### 2.3 荧光增白剂 FB28 对围食膜蛋白的影响

#### 2.3.1 SDS-PAGE 检测结果

对荧光增白剂 FB28 添食 2 h, 4 h 和恢复正常饮食后的家蚕围食膜蛋白做电泳检测, 正常 5 龄 3 d 家蚕围食膜作为对照 (CK). 结果显示, 荧光增白剂 FB28 处理 2 h 和 4 h 后, 高分子蛋白明显减少, 特别是 210 kD 和 37 kD 蛋白减少, 而在 17 kD 左右出现了最亮的条带, 恢复正常饮食后该条带减弱, 高分子蛋白条带重新出现, 24 h 后蛋白基本恢复正常(图 7).

#### 2.3.2 质谱检测结果

对 17 kD 蛋白条带做质谱检测, CK,

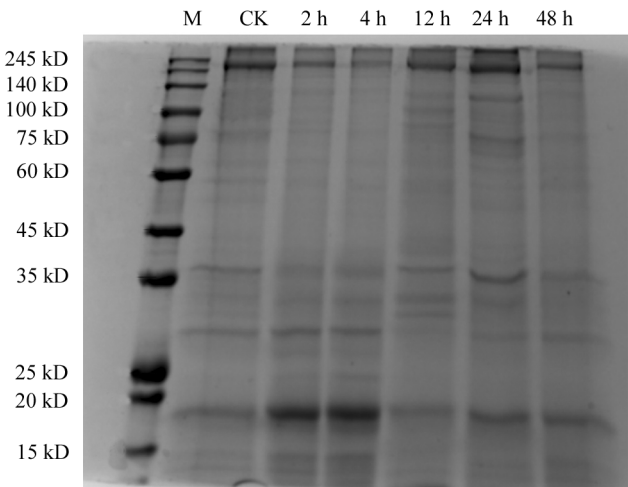


图 7 FB28 处理家蚕围食膜蛋白的 SDS-PAGE 图

2 h, 4 h 鉴定总蛋白数分别为 171, 180, 158 个, 其中约 2/3 为未命名蛋白. FB28 处理 2 h, 4 h 跟对照组相比, 减少了家蚕贮藏蛋白(Silkworm storage protein)、钙黏蛋白样膜蛋白(Cadherin-like membrane protein)、血淋巴保幼激素结合蛋白(Hemolymph juvenile hormone binding protein)、组蛋白 H4(Histone H4)等 23 种蛋白. 新增了与免疫(Apolipophorin-III, Beta-1, 3-glucanase)、昆虫生殖能力和抗逆能力(Methuselah-like protein 5)和蛋白质结合(60s ribosomal export protein NMD3)相关的 12 种蛋白(表 2).

表 2 FB28 处理后新增蛋白

| 蛋白 ID  | 蛋白名                                    |
|--------|----------------------------------------|
| Q17180 | Apolipophorin-III                      |
| Q95P97 | Bombyrin                               |
| J7ETB0 | Methuselah-like protein 5              |
| H9JKQ9 | Mother against decapentaplegic homolog |
| H9JSN6 | 60s ribosomal export protein NMD3      |
| C8C9T4 | Beta-1, 3-glucanase                    |
| Q9U5E1 | Promoting Protein                      |
| Q9BMQ7 | 35 kD protease                         |
| O01953 | Serine protease                        |
| Q1HPW8 | Chymotrypsin-like serine protease      |
| H9JPG9 | Transferrin                            |
| Q8T113 | 27 kD glycoprotein                     |

3 讨论

围食膜作为昆虫防御的屏障, 一方面需要保证结构的完整致密, 阻挡病原及药物入侵; 另一方面又要保持一定的通透性, 便于物质流通, 保证昆虫的正常生理活动. 在防治害虫时围食膜通透性的增强有利于病原及药物的入侵、加速感染进程、减少致死时间和增强杀虫效果. 本实验中, 荧光增白剂 FB28 对家蚕围食膜的破坏最为强烈和迅速, 2~4 h 围食膜通透性显著增强, 4 h 时已能透过 2 000 kD 葡聚糖分子, 通过环扫电镜观察到此时围食膜表面不光滑, 并出现 1.4  $\mu\text{m}$  左右的圆形凸起; 6 h 时围食膜基本消失. 凝集素对家蚕围食膜也有一定影响, 但作用不如荧光增白剂 FB28 强烈, 48 h 观察到围食膜依然相对完整, 但膜厚度不均, 同时电镜观察到“无定型的、球形的电子致密结构”, 此结构与 Harper<sup>[16]</sup>在凝集素对欧洲玉米螟(ECB)幼虫围食膜影响的研究中观察到的现象一致, 推测是由于凝集素的多位点结合能力可以凝集糖蛋白, 使其具有较强的电子密度; 同时凝集素将导致蛋白凝集缺陷, 使围食膜通透性显著增大.

Mitsui 等<sup>[11]</sup>认为灭幼脉抑制了几丁质合成的生化过程, 由于几丁质前体物尿苷二磷酸乙酰氨基葡萄糖在皮细胞内向膜外的转运受阻, 使处在膜上的几丁质合成酶无法进行几丁质合成的最后聚合步骤, 这是对几丁质合成受阻较为深入的假说. 本实验中灭幼脉处理后, 围食膜通透性并未显著升高, 反而有降低的趋势, 围食膜多层结构异常, 层与层之间变疏松、皱褶增多; 结合电镜观察围食膜表面结构粗糙, 凹凸不平, 推测是由于几丁质合成被抑制导致蛋白结合紊乱, 层状结构异常, 物质通过缓慢, 从而使通透性降低. 灭幼脉除能影响几丁质合成以外, 还可能存在其他机制, 其对围食膜的作用机制和效果有待进一步的研究.

对荧光增白剂 FB28 处理后的围食膜做 SDS-PAGE 检测和质谱分析, 发现进食 2 h 后, 高分子蛋白明显减少, 2 h 和 4 h 时在 17 kD 左右都出现了最亮的条带, 此结果说明荧光增白剂 FB28 竞争结合围食膜几丁质, 可解离部分围食膜蛋白, 其对昆虫围食膜的作用具有普遍性, 但作用的效果可能不同. 质谱检测发现, 与对照组相比, 新增了与免疫(Apolipophorin-III, Beta-1, 3-glucanase)、昆虫生殖能力和抗逆能力

(Methuselah-like protein 5)和蛋白质结合(60s ribosomal export protein NMD3)相关的蛋白,推测荧光增白剂 FB28 添食可能导致昆虫产生免疫反应,使免疫相关蛋白高量表达。

通过对家蚕围食膜结构和通透性的研究,更直观地反映农药及增效因子的作用效果,可以为害虫防治提供新的思路及参考。

## 参考文献:

- [1] 史晋绒,刘博,马艳,等. 昆虫围食膜的研究进展 [J]. 蚕学通讯, 2010, 30(3): 7-13.
- [2] 乔冠华. 棉铃虫中肠防御系统—围食膜的发育研究及分子检测 [D]. 郑州: 河南农业大学, 2010.
- [3] 陈涛,王俊平,李淑文,等. 荧光增白剂和增效蛋白对粘虫核型多角体病毒的增效作用 [J]. 华北农学报, 2008, 23(4): 23-27.
- [4] 尹姣,郭巍,李克斌,等. 光增白剂 M2R 对草地螟中肠围食膜的影响及对 Bt 毒力的增效作用 [J]. 昆虫学报, 2009, 52(7): 763-768.
- [5] HARPER M S, HOPKINS T L, CZAPLA T H. Effect of Wheat Germ Agglutinin on Formation and Structure of the Peritrophic Membrane in European Corn Borer (*Ostrinia Nubilalis*) Larvae [J]. Tissue & Cell, 1998, 30(2): 166-176.
- [6] HUBER M, CABIB E, MILLER L H. Malaria Parasite Chitinase and Penetration of the Mosquito Peritrophic Membrane [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1991, 88(7): 2807-2810.
- [7] 李帅. 金龟子围食膜结构组成及增效因子对其影响的研究 [D]. 青岛: 青岛农业大学, 2008.
- [8] 郭慧芳,方继朝,韩召军. 昆虫病毒增效剂研究进展 [J]. 昆虫学报, 2003, 46(6): 766-772.
- [9] ZIMMERMANN D, PETERS W. Fine Structure and Permeability of Peritrophic Membranes of *Calliphora erythrocephala* (Meigen) (Insecta: Diptera) after Inhibition of Chitin and Protein Synthesis [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry, 1987, 86(2): 353-360.
- [10] 朱蓉,彭建新,洪华珠. 光增白剂对甜菜夜蛾围食膜结构的作用与影响 [J]. 昆虫学报, 2003, 46(4): 424-428.
- [11] MITSUI T, NOBUSAWA C, FUKAMI J I. Mode of Inhibition of Chitin Synthesis by Diflubenzuron in the Cabbage Armyworm, *Mamestra Brassicae* L [J]. Journal of Pesticide Science, 1984, 9(1): 19-26.
- [12] 龚国玟,王荫长,尤子平. 灭幼脲对小地老虎、粘虫及黄粉蚜幼虫内部器官和组织的作用及毒理 [J]. 昆虫学报, 1988, 31(4): 358-365, 449.
- [13] 田晓丽,卢文涛. 灭幼脲对粘虫围食膜的影响及与其病毒的联合毒力作用 [J]. 西南农业学报, 2018, 31(1): 89-93.
- [14] 贾凤龙,王勇军,咎启杰. 灭幼脲Ⅲ号、苏云金杆菌防治广州小斑螟药效试验 [J]. 昆虫天敌, 2001, 23(2): 86-89.
- [15] 李云芝,石瑞常,刘文光,等. 灭幼脲对家蚕的毒性试验及中毒症状 [J]. 北方蚕业, 2008, 29(3): 18-19.
- [16] HARPER M S. Effect of Wheat Germ Agglutinin on Formation and Structure of the Peritrophic Membrane in European Corn Borer (*Ostrinia nubilalis*) Larvae [J]. Tissue and Cell, 1998, 30(2): 166-176.
- [17] 刘晓雷,张莉,顾星,等. Ussing chamber 技术在药物肠吸收方面的应用进展 [J]. 中国新药杂志, 2015, 24(6): 644-648.
- [18] SPENCE, K D, KAWATA M Y. Permeability Characteristics of the Peritrophic Membranes of *Manduca sexta* Larvae [J]. Journal of Insect Physiology, 1993, 39(9): 785-790.
- [19] PENG J X, ZHONG J, ROBERT R, et al. A Baculovirus Enhancin Alters the Permeability of a Mucosal Midgut Peritrophic Matrix from Lepidopteran Larvae [J]. Journal of Insect Physiology, 1999, 45(2): 159-166.

责任编辑 周仁惠