

印度谷螟触角温度变化对 Ca^{2+} 信号的影响

叶斌^{1,*}, 李磊²

1 旭月生物功能研究院, 北京, 中国, 100080

2 旭月(北京)科技有限公司, 北京, 中国, 100080

摘要: 为解决因环境差异导致实验结果的差异性, 本文使用了新研发的实验环境监测仪, 在实验中实时检测活体样品的环境参数, 确保实验中环境参数的记录。文章利用实验环境监测仪, 在检测昆虫生理环境的同时, 使用 NMT 检测昆虫触角 Ca^{2+} 流速, 在温度为 25°C , 湿度为 29%, 压强为 995hPa, 海拔为 145m 的环境下, 检测到钙离子流速为吸收的趋势, 而在温度为 15°C , 湿度为 54%, 压强为 994hPa, 海拔为 153m 的环境下, 昆虫触角对钙离子的吸收明显大于温度为 25 摄氏度的环境。本文为研究不同生理环境参数的变化对生物体的生理功能影响提供研究依据。

关键词: 非损伤微测技术; 环境参数; 温度; 湿度; 压强; 海拔; 实验环境

印度谷螟是中国比较常见的一种蛾类, 属于昆虫纲鳞翅目螟蛾科昆虫, 中国国内除西藏尚未发现外, 其余各省市、自治区均有分布。以幼虫危害各种粮食和加工品、豆类、油料、花生、各种干果、干菜、奶粉、蜜饯果品、中药材、烟叶等。印度谷螟在不同的环境下均可以生长发育, 本次实验也是为了了解在不同的温度环境下, 印度谷螟在生理上会有什么变化, 进而了解环境对昆虫有什么影响。

昆虫对于环境温度改变, 能够很快的做出应激的反应, 实验中需要选取既能够保证昆虫的活性状态, 又能够检测相应指标的技术, 所以使用了非损伤微测技术(NMT), 它能够快速的检测活体样品的分子离子流速, 确保昆虫在活性状态下, 检测出相应的指标。而为了能够更快、更精准的捕捉环境的变化, 并进行记录, 选取了实验环境监测

仪(PEP)对环境的变化进行实时的记录并输出实时的环境变化。

在指标的选取上, 钙离子参与突触神经递质合成与释放、蛋白激素合成与分泌, 代谢以及细胞内外酶的激活和释放, 并且在神经元胞内 Ca^{2+} 参与疼痛信息的调控等, 对于昆虫触角的信号指标选取, 选取了钙离子作为检测指标。

下面的实验使基于上述活体与环境相结合的设计, 为环境对昆虫影响的研究提供方法。

收稿日期: 2022-12-23

* 通讯作者 E-mail: xuyue_yebin@126.com

电话: 18501056715

1 材料与方法

1.1 材料

选取鳞翅目螟蛾科的昆虫（图一）进行实验，样品采集于野外刚孵化的昆虫，放至光周期为 16 小时光照，8 小时黑暗；光强为 $300\text{--}400\mu\text{mol cm}^{-2}\text{ s}^{-1}$ ；光照条件下的温度为 24°C ，相对湿度为 80%；黑暗条件下的温度为 20°C ，相对湿度 80% 的环境中培养两天后进行实验。



图一： 鳞翅目螟蛾科昆虫样品

1.2 实验环境监测仪

实验环境监测仪（PEP）（旭月（北京）科技有限公司）（图二）型号为 PEP-1.0。PEP 能够检测并显示活体样品周围环境的温度、湿度、压强与海拔数值，并可以在网页端显示数据与时间的折线图并下载 CSV 文件。

在实验中利用 PEP 检测环境中的各项参数，为实验提供更准确的参数依据。



图二： 实验环境监测仪

1.3 昆虫触角 Ca^{2+} 流速测定

利用非损伤微测技术（Non-invasive Micro-test Technology, NMT），使用非损伤微测系统第七代产品 NMT Physiolyzer®（NMT 活体生理检测仪，美国扬格公司，youngerusa.com）进行流速数据的检测。准备一只培养皿，加入测试液（ 0.1 mM KCl , 0.1 mM CaCl_2 , 0.1 mM MgCl_2 , 0.5 mM NaCl , 0.3 mM MES , $0.2\text{ mM Na}_2\text{SO}_4$, pH 6.0），将昆虫浸泡在测试液中露出头部触角待测区域，静置 15min 后，弃去测试液，加入 5ml 新鲜测试液，上样检测。在显微镜镜下找到目标检测区域，将 Ca^{2+} 流速传感器置于距离昆虫触角末端表面约 $5\mu\text{m}$ 处，开始检测，每个样品检测 3 分钟。期间在正常环境下和低温环境下的处理，每组检测 5 个重复。通过 imFluxes V2.0 软件（YoungerUSA LLC, Amherst, MA 01002, USA）直接读取 Ca^{2+} 流速数据，流速单位是 $\text{mol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ，正值代表外排，负值代表吸收。

1.4 数据分析

Ca^{2+} 流速数据使用流速云（IF100，卫水土（北京）科技有限公司，<http://nmtia.org.cn/imfluxes>）软件进行处理及分析。

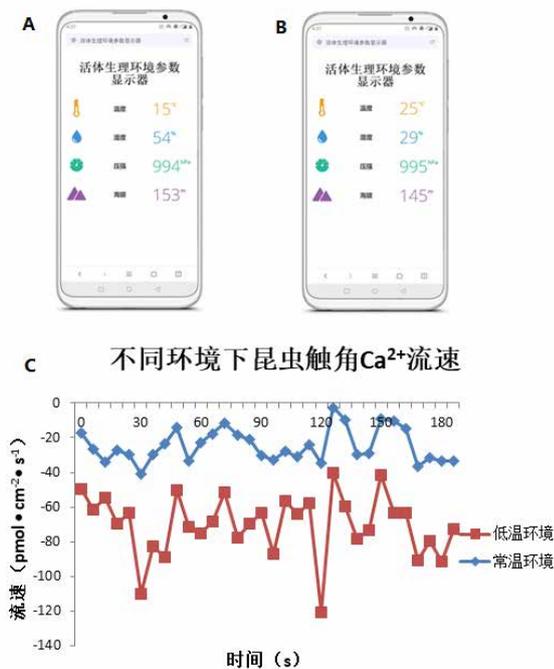
2 结果与讨论

2.1 实验结果

使用 NMT 检测昆虫触角 Ca^{2+} 流速（图三），在温度为 25°C ，湿度为 29%，压强为 995hPa，海拔为 145m 的环境下，检测到钙离子流速为吸收的趋势，而在温度为

15°C，湿度为 54%，压强为 994hPa，海拔为 153m 的环境下，昆虫触角对钙离子的吸收明显大于温度为 25 摄氏度的环境。

图三注：A 为低温环境参数；B 为正常温度下环境参数；C 为在不同环境下的昆虫触角 Ca^{2+} 流速，其中流速正值代表外排，负值代表吸收。



图三：不同环境下昆虫触角 Ca^{2+} 流速

(责任编辑：李雪霏)

2.2 讨论

外界环境的参数一直是研究者所关注的，但是对外界环境参数的全面测定产品还是比较少的，实验环境监测仪 (PEP) 能够提供的参数还是不全面的，面对其他环境参数诸如经纬度、大气氧浓度、二氧化碳浓度等依旧处于开发完善当中，其他参数与功能也需要科学家们提供创新的想法，共同完善环境参数的产品。

本文使用的是最初代的 PEP 产品，在实时显示环境参数及数据输出方面还没有完

善，最新代的 PEP 产品已将此功能进行添加，确保在检测样品数据的同时，对应实时的环境参数数值，使数据的环境参数更加准确。同时 PEP 产品还在手机端的输出进行尝试，如果有实验中需要完善的功能，我们还是需要广大的科研人员提供需求。

参考文献

- [1].Ma Y, et al. COLD1 Confers Chilling Tolerance in Rice. *Cell.*, 2015,160(6):1209-21.
- [2].Yu Y, et al. Heat shock responses in *Populus euphratica* cell cultures important role of crosstalk among hydrogen peroxide, calcium and potassium. *Plant Cell Tissue and Organ Culture.* 2016, 125(2): 215-230.
- [3].Zhang D J, et al. OsCIPK7 point-mutation leads to conformation and kinase-activity change for sensing cold response. *Journal of integrative plant biology.*2019