

# 淡足侧沟茧蜂寄生对甜菜夜蛾幼虫血淋巴 保护酶和免疫酶的影响\*

季香云\*\* 印杨毅 万年峰 蒋杰贤\*\*\*

(上海市农业科学院生态环境保护研究所, 上海 201403)

**摘要** 【目的】为探讨淡足侧沟茧蜂 *Microplitis pallidipes* Szepligetii 调控寄主甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* (Hübner) 的生理机制。【方法】测定了淡足侧沟茧蜂寄生甜菜夜蛾后, 寄主幼虫血淋巴中保护酶 (SOD、CAT 及 POD) 和免疫酶 (PO 和 LSZ) 活性的变化。【结果】寄生后连续 5 d 观察时间内, 从寄生后第 1 天开始, 寄主幼虫血淋巴中 SOD 活性就高于未寄生幼虫 (对照), 且在寄生后第 4~5 天达到显著水平; 被寄生幼虫血淋巴中 CAT 活性始终高于对照幼虫, 且在寄生后第 1、第 4~5 天达到显著水平; 同样, 甜菜夜蛾被寄生后, 其血淋巴中 POD 活性明显高于对照幼虫, 且在寄生后第 1~2、第 5 天达显著水平; 寄生后第 1 天, 寄生与对照组酚氧化酶活性差异不显著, 但寄生后第 2~5 天均达到显著水平; 较对照组, 寄生后第 1~2 天, 被寄生幼虫溶菌酶活性增加但无显著差异, 而寄生后 3~4 d 溶菌酶活性显著降低。【结论】本研究揭示, 淡足侧沟茧蜂寄生刺激了甜菜夜蛾幼虫体内的应激反应, 诱导寄主体内 SOD、CAT 和 POD 活性明显上升, 阻止寄生蜂成功寄生; 同时, 寄生蜂寄生诱导了寄主免疫酶 (PO、LSZ) 活性的变化, 免疫酶活性的变化是寄主免疫系统对寄生蜂寄生的一种应急免疫反应。

**关键词** 淡足侧沟茧蜂, 甜菜夜蛾, 寄生, 血淋巴, 保护酶, 免疫酶

## The effect of parasitization by *Microplitis pallidipes* Szepligetii (Hymenoptera: Braconidae) on the activities of protective and immune enzymes in the hemolymph of larval *Spodoptera exigua* (Hübner)

Ji Xiang-Yun\*\* YIN Yang-Yi WAN Nian-Feng JIANG Jie-Xian\*\*\*

(Eco-environment Protection Research Institute, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai Key Laboratory of Protected Horticultural Technology, Shanghai 201403, China)

**Abstract** 【Objectives】*Spodoptera exigua* (Hübner) (beet armyworm) is a global insect pest that feeds on various agricultural crops including vegetables, cotton, and ornamentals. The main methods to control *S. exigua* are using chemical pesticides which can negatively impact human health and the environment. Using biological control organisms such as *Microplitis pallidipes* Szepligetii can reduce pesticide applications. To investigate the physiological mechanism of the parasitization of *S. exigua* larva by the *M. pallidipes* by collecting hemolymph from parasitized host larvae. 【Methods】We examined the activities of immune and protective enzymes using a microplate reader. 【Result】The results indicated that the activity of superoxide dismutase (SOD) in the hemolymph of larval *S. exigua* began to increase 1 day after parasitization (DAP) compared to the control with significant differences occurring 4-5 DAP. Catalase (CAT) activity in the hemolymphs were consistently higher in parasitized larvae compared to the control, significantly at 1, 4, and 5 DAP. Finally, peroxidase (POD)

\*资助项目 Supported projects: 上海市农委重点基础研究项目[沪农科基字(2014)第7-3-2号]; 国家自然科学基金青年基金(31601641); 国家自然科学基金面上基金(31171904)

\*\*第一作者 First author, E-mail: hwyf2002@163.com

\*\*\*通讯作者 Corresponding author, E-mail: jiangjiexian@163.com

收稿日期 Received: 2016-07-07, 接受日期 Accepted: 2016-10-31

activity was also higher in parasitized larvae compared to the control, significantly at 1, 2, and 5 DAP. **[Conclusion]** These results suggest that excess reactive oxygen species (ROS) generated in host larvae were scavenged by SOD, POD and CAT impeding for more successful development of *M. pallidipes* in the host larvae. Simultaneously, Phenoloxidase (PO) activity was significantly lower in parasitized larvae after 1 DAP while lysozyme (LSZ) activity was significantly lower 3-4 DAP in the same treatment. Together, these results suggest that changes immune and protective enzyme and activities following parasitism are involved in *S. exigua* immune responses against parasitization, and provide insights into the physiological mechanisms of *M. pallidipes* regulation of host responses.

**Key words** *Microplitis pallidipes* Szepligeti, *Spodoptera exigua* (Hübner), parasitization, protective enzymes, immune enzymes, hemolymph

生物体在自然环境中生存,经常会受到外界不良因子的威胁,这些不良因子会胁迫生物体产生过量的活性氧自由基(ROS),ROS会破坏脂类、蛋白质等大分子化合物(Grubor-lajsic *et al.*, 1997),但生物体同样存在包括超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(Catalase, CAT)和过氧化物酶(Peroxidase, POD)等的保护酶系,这3种保护酶处于一种动态平衡中,能够清除体内多余的自由基,使自由基保持在较低的水平,从而防止自由基的毒害(Arakawa, 1995; Nappia *et al.*, 1995; 张友军等, 2003; 廖月枝等, 2011)。当寄主被寄生蜂寄生后,寄主同样会启动体内保护酶系统进行防御,以保证体内正常的生理活动(王龙江等, 2010; 杨光平等, 2013)。同时,昆虫抵御外来物入侵的主要方式是通过体内免疫系统,而酚氧化酶(Phenoloxidase, PO)和溶菌酶(Lysozyme, LSZ)是昆虫体内参与体液免疫和细胞免疫的重要免疫酶,当寄生蜂寄生寄主后,无活性酚氧化酶原很快就转化为有活性的酚氧化酶,对寄主生长起到保护性作用,溶菌酶被释放在体液中,能够破坏和消除侵入体内的异物,担负昆虫机体内防御功能(时超美, 2000; 尹丽红和王琛柱, 2001)。

淡足侧沟茧蜂 *Microplitis pallidipes* Szepligeti 是夜蛾科低龄幼虫的优势寄生蜂,在甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* (Hübner) 自然种群数量调节中有重要作用(Jiang *et al.*, 2011)。目前,该蜂的生物学特性、形态、寄生行为,以及甜菜夜蛾被该蜂寄生后的生理变化等方面已有研究报道(曾爱平等, 2005; 季香云等, 2013; Jiang

*et al.*, 2013, 2014; Ji *et al.*, 2016), 但该蜂寄生对甜菜夜蛾保护酶系和免疫酶系的影响鲜见报道。因此,本研究测定了淡足侧沟茧蜂寄生对甜菜夜蛾幼虫血淋巴保护酶系(SOD、CAT和POD)和免疫酶系(PO和LSZ)的影响,旨在为研究寄生蜂调控寄主的机制积累资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试虫源

甜菜夜蛾卵块和淡足侧沟茧蜂蜂茧均采自上海市农业科学院庄行综合试验站的甘蓝上,在人工气候培养箱[(28±1)、14L:10D、RH=80%±5%]内用人工饲料继代饲养7~9代(Jiang *et al.*, 2011)。室内饲养至甜菜夜蛾化蛹后,将蛹转移到产卵笼中羽化。成虫羽化后,用10%蜂蜜水饲喂,成虫产卵后收集同一天的卵块放入孵化瓶中,孵化后的幼虫饲养至2龄末供繁蜂用,按蜂虫比1:50放入繁蜂笼中繁殖淡足侧沟茧蜂(王德安等, 2001)。24 h后,被侧沟茧蜂寄生的甜菜夜蛾幼虫单头饲养于指形玻璃管中,等寄生蜂出茧并羽化后,饲喂10%蜂蜜水,交配12 h后,选取触角完整、活跃的1~2日龄雌蜂用于试验。

### 1.2 试验设计与方法

试验时,将1头交配过的雌蜂放入置有20头甜菜夜蛾2龄末幼虫的试管中(25 mm×150 mm),共设置20头交配过的雌蜂寄生甜菜夜蛾。寄生24 h后,将幼虫单头转移至洁净试管中,并用新鲜人工饲料喂养。另设大小基本一

致、同龄期末寄生甜菜夜蛾幼虫为对照。处理和对照均放置同上述条件的培养箱内饲养。寄生后连续 5 d 测定被寄生和未寄生甜菜夜蛾幼虫血淋巴中 3 种保护酶和 2 种免疫酶活性。

**1.2.1 甜菜夜蛾幼虫血淋巴收集** 75%乙醇消毒、蒸馏水清洗各处理组幼虫后用滤纸吸干虫体,用医用解剖针挑破幼虫第 3 和第 4 腹节之间腹部,在冰冻的抗凝剂缓冲液中用毛细管收集一定量的血淋巴,放置 1.5 mL 的离心管中,4℃ 800 r/min 离心 10 min,去掉血细胞和其他组织残骸,收集上清液放置 -20℃ 备用。

### 1.2.2 酶活性测定方法

**超氧化物歧化酶 (SOD) 活性测定** 参照 NBT 法进行 (Beauchamp and Fridovich, 1971)。反应液总体积为 3 mL,该体系中含有 80 μmol/L 核黄素、77 μmol/L 氮蓝四唑 (NBT)、13 mmol/L 甲硫氨酸 (MET)、0.1 mmol/L EDTA 和酶粗提液于 4 000 lx 光照下照射 5 min 后,避光终止反应,在分光光度计上测定 OD<sub>560</sub>,未光照的相同反应管为对照管,重复 6 次,计算 SOD 活性,并测定酶粗提液中的蛋白质的含量。以达到抑制率为 50% 时所需酶量作为一个酶活性单位 (U)。酶活性以 OD<sub>560</sub>·mg<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup> 表示。

**过氧化氢酶 (CAT) 活性测定** 反应体系中含有 0.1 mol/L pH7.0 的 PBS、0.08% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和酶液,测定 OD<sub>240</sub>,每 0.5 min 计数一次,共记录 10 次,取其平均值。测定酶液的蛋白含量,酶活性以 OD<sub>240</sub>·mg<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup> 表示 (张友军等, 2003)。

**过氧化物酶 (POD) 活性测定** 参照 Simon 等 (1974) 方法,略有改动后进行:反应体系中含有 0.1 mol/L pH 6.0 的 PBS、30 mmol/L 愈创木酚、26 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和酶液,37℃ 反应 5 min 后测定 OD<sub>470</sub>,并测定酶液的蛋白含量。酶活性以 OD<sub>470</sub>·mg<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup> 表示。

**酚氧化酶 (PO) 活性的测定** 取 50 μL 各处理组粗酶液及 40 μL 0.1 mol/L 氯代十六烷基吡啶 (CPC) 于反应管中,混合均匀,30℃ 在水浴锅温水浴 10 min,再加入 50 μL 0.02 mol/L L-3,4-二羟基苯丙氨酸 (L-DOPA) 作为底物继续

温水浴 1 min,然后加入 CAC 缓冲液,加至总量为 3.0 mL,在酶标仪上测定波长 490 nm 处 1 min 内吸光值的变化值。一个酶单位设定为每毫克蛋白质光吸收值增大 0.001,试验设空白对照,每处理重复 6 次,统计出 PO 活性 (冯从经等, 2004)。

**溶菌酶 (LSZ) 活性的测定** 采用南京建成生物工程研究所出售的溶菌酶试剂盒中的方法二 (空白对照法),测定溶菌酶的含量。每个样品重复测定 3 次。按下式计算溶菌酶活性 (U/mL):

$$\text{溶菌酶含量} (\mu\text{g/mL}) = \frac{\text{测定管透光度} UT_{15} - \text{空白管透光度} OT_{15}}{\text{标准管透光度} ST_{15} - \text{空白管透光度} OT_{15}} \times \frac{\text{标准管浓度}}{\text{样品测试前}} \times \text{稀释倍数}$$

2.5 μg/mL 即 200 U/mL

注:OT<sub>15</sub> 为水浴 15 min 后的空白管透光度;UT<sub>15</sub> 为水浴 15 min 后的测定管透光度;ST<sub>15</sub> 为水浴 15 min 后的标准管透光度。

**1.2.3 蛋白质含量测定** 采用 Bradford (1976) 的考马斯亮蓝 G-250 法。配制 50 mL 0.15 mol/L NaCl 和 5 mL 1 μg/μL 牛血清白蛋白溶液。分别取不同数量的牛血清白蛋白,与 NaCl 溶液及蛋白溶液相混匀,在 595 nm 条件下测 OD 值,作出标准曲线,测样品中的蛋白浓度。

## 1.3 数据处理

用 Compare-*t* 法检验寄生和对照甜菜夜蛾幼虫血淋巴中 3 种保护酶和 2 种免疫酶在 5% 水平上的差异 (SPSS16.0)。

## 2 结果与分析

### 2.1 淡足侧沟茧蜂寄生对寄主血淋巴中保护酶活性的影响

**2.1.1 淡足侧沟茧蜂寄生对寄主血淋巴中超氧化物歧化酶 (SOD) 活性的影响** 由图 1 可知,在连续 5 d 观察时间内,被寄生甜菜夜蛾幼虫血淋巴 SOD 活性始终高于未被寄生幼虫,且在寄生后第 4、第 5 天后差异显著,这表明淡足侧沟

茧蜂寄生明显增加了寄主甜菜夜蛾幼虫血淋巴 SOD 活性。在整个观察时间内, 未寄生甜菜夜蛾血淋巴 SOD 活性维持相对稳定的水平, 而寄生甜菜夜蛾血淋巴 SOD 活性波动相对较大, 处理后第 1 天开始 SOD 活性一直呈上升状态, 表明寄生蜂寄生寄主后, 寄主代谢系统担负寄生蜂和寄主幼虫的共同发育,  $O_2$  消耗量增加, 导致虫体内  $O_2$  和  $HO^{\cdot}$  大量增加, 从而诱导 SOD 活性明显上升以清除寄主体内产生的过量自由基。未寄生幼虫 SOD 活性呈先上升后下降趋势。说明随幼虫龄期增加, 虫体代谢明显增强, 虫体内的超氧阴离子自由基的量也有明显增加, 从而诱导 SOD 活性明显上升, 但后期随着虫体老化和代谢减弱, 幼虫 SOD 活性又出现下降趋势。

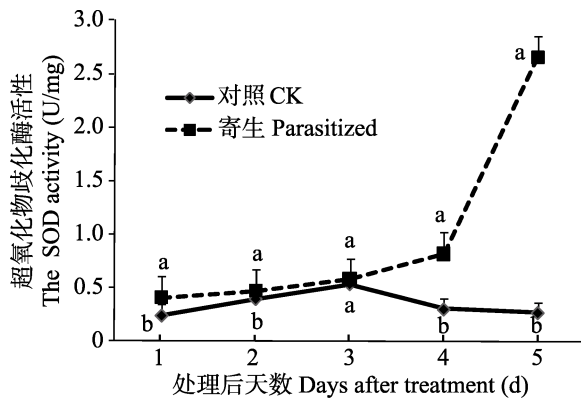


图 1 淡足侧沟茧蜂寄生对甜菜夜蛾幼虫血淋巴中 SOD 活性的影响

Fig. 1 Effects of parasitized by *Microplitis pallidipes* on the SOD activity in the hemolymph of parasitized host larvae

小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。下图同。

Lowercase letters indicates significant different at 0.05 level. The same below.

**2.1.2 淡足侧沟茧蜂寄生对寄主幼虫血淋巴中过氧化氢酶 (CAT) 活性的影响** 由图 2 可知, 淡足侧沟茧蜂寄生总体上刺激了寄主甜菜夜蛾幼虫血淋巴 CAT 活性。被寄生甜菜夜蛾幼虫血淋巴 CAT 活性始终高于未寄生幼虫, 且在寄生后第 1、2、5 天达到显著水平。说明寄生蜂寄生可导致寄主体内  $H_2O_2$  增加, 进而使 CAT 活性增大, 以清除过量的  $H_2O_2$ , 避免  $OH^{\cdot}$  对细胞的毒害, 这对寄生蜂在寄主幼虫体内进一步发育有利。在连续 5 d 的观察时间内, 被寄生的甜菜夜

蛾幼虫血淋巴 CAT 酶活性, 从寄生后第 1 天开始就逐渐下降, 最低值为 3.08 U/mg, 而后迅速上升, 在寄生后第 5 天达到最高值, 最高值为 14.78 U/mg。这表明随寄生蜂幼虫在寄主体内的发育, 寄生蜂幼虫逐渐长大, 其生理代谢活动加强, 因此寄主的代谢也相应加快, 寄主体内的生理微环境遭到严重破坏, 体内  $H_2O_2$  被累积起来, 引起 CAT 活性明显增加。而未寄生甜菜夜蛾幼虫血淋巴 CAT 酶活性, 在处理前 3 d 逐渐上升, 而后开始下降, 其最高值和最低值分别为 2.14 U/mg、0.70 U/mg, 但整个生长发育过程中总体趋于稳定, 波动范围不大。

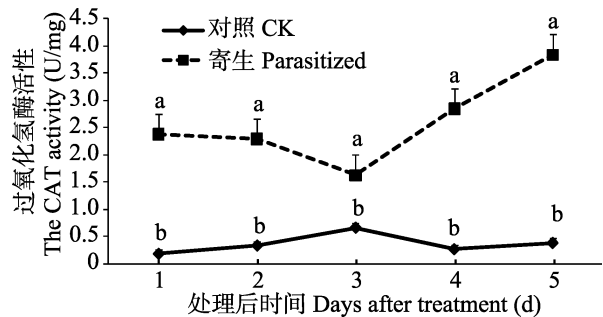


图 2 淡足侧沟茧蜂寄生对甜菜夜蛾幼虫血淋巴中 CAT 活性的影响

Fig. 2 Effects of parasitized by *Microplitis pallidipes* on the CAT activity in the host hemolymph of parasitized larvae

**2.1.3 淡足侧沟茧蜂寄生对寄主幼虫血淋巴中过氧化物酶 (POD) 活性的影响** 由图 3 可以看出, 淡足侧沟茧蜂寄生寄主后 5 d 时间内, 与未寄生幼虫相比, 寄主血淋巴中过氧化物酶活性均高于未寄生幼虫, 但寄生后第 3、第 4 天差异不显著; 寄生后 1~5 d, 寄主血淋巴中的 POD 活性呈先升后降再上升的趋势, 表明寄生也诱导 POD 活性升高, 其作用与 CAT 相同。寄主昆虫被寄生后 POD 活性明显升高, 致使酚氧化酶 (PO) 活性受到抑制, 这有利于寄主昆虫正常发育, 延长寿命, 也有利于寄生蜂从寄主获取更多营养, 得以成功寄生。未寄生幼虫 1~5 d 血淋巴中的 POD 活性随着幼虫生长发育的不同阶段, 其过氧化物酶活性变化趋势与被寄生的寄主相比, 变化趋势正好相反, 呈现先升后降趋势。

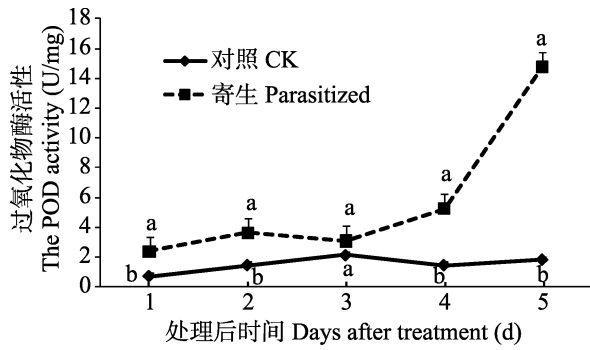


图3 淡足侧沟茧蜂寄生对甜菜夜蛾幼虫血淋巴中 POD 活性的影响

Fig. 3 Effects of parasitized by *Microplitis pallidipes* on the POD activity in the host hemolymph of parasitized larvae

## 2.2 淡足侧沟茧蜂寄生对寄主幼虫血淋巴中免疫酶 (PO、LSZ) 活性的影响

甜菜夜蛾幼虫在寄生后 1~5 d 内, 未寄生幼虫与寄生幼虫血淋巴中酚氧化酶活性变化呈相同趋势。甜菜夜蛾幼虫在寄生处理后 1~3 d, 寄生幼虫血淋巴中酚氧化酶活性逐渐升高, 寄生后第 4 天略有降低, 第 5 天又呈升高趋势; 寄生后 1~5 d 寄生幼虫血淋巴中酚氧化酶均比未寄生幼

虫低, 方差分析表明, 寄生后第 1 天, 寄生与对照间酚氧化酶活性差异不显著, 第 2 至第 5 天未寄生幼虫和寄生幼虫酚氧化酶活性均达到差异显著水平。寄生 1~5 d 后寄主幼虫血淋巴中酚氧化酶活性分别为 1.60、3.02、3.91、3.32、4.42 U/mg, 未寄生幼虫血淋巴中酚氧化酶含量相应为 5.43、7.51、9.85、6.30、7.11、4.42 U/mg (表 1)。

淡足侧沟茧蜂寄生后对寄主甜菜夜蛾血淋巴中溶菌酶活性随着寄生时间的增加, 酶活性发生明显变化, 寄生后 1~2 d, 溶菌酶活性增加, 寄生后 3~5 d, 溶菌酶活性降低, 而未寄生幼虫血淋巴中溶菌酶活性变化与寄生幼虫中血淋巴中溶菌酶活性变化趋势略有不同, 在相应时间内, 溶菌酶活性呈先升高后降低趋势, 但在第 5 天, 溶菌酶活性再次增加。寄主寄生后 1~5 d 血淋巴中溶菌酶活性分别为 70.05、102.09、140.52、112.52、112.99、88.14 U/mL, 相应未寄生幼虫血淋巴中溶菌酶活性分别为 71.18、107.45、79.80、63.80、106.28 U/mL, 寄生后 3~4 d, 寄生幼虫与未寄生幼虫血淋巴溶菌酶活性方差分析差异显著 (表 1)。

表 1 淡足侧沟茧蜂寄生对寄主血淋巴中酚氧化酶和溶菌酶活性的影响

Table 1 Influence of the cooperation of *Microplitis pallidipes* on the phenoloxidase and LSZ activity of *Spodoptera exigua*

寄生后时间 Days after treatment	处理 Treatment	酚氧化酶 (U/mg) Phenoloxidase activity	溶菌酶 (U/mg) Lysozyme activity
1 d	对照 CK	5.43±1.51a	71.18±1.14a
	寄生 Parasitized	1.60±0.09a	74.05±2.50a
2 d	对照 CK	7.51±0.12a	107.45±2.61a
	寄生 Parasitized	3.03±0.22b	102.09±4.18a
3 d	对照 CK	9.85±0.19a	79.80±1.16a
	寄生 Parasitized	3.91±0.13b	140.54±8.24b
4 d	对照 CK	6.30±0.14a	63.80±1.50a
	寄生 Parasitized	3.32±0.17b	112.99±10.54b
5 d	对照 CK	7.11±0.73a	106.28±2.16a
	寄生 Parasitized	4.42±0.28b	88.14±12.72a

表中数据为平均数±标准误, 同列数据后标注不同字母表示同一处理时间内寄生和对照的差异显著性 (Compare-*t* test,  $P < 0.05$ )。

The data in table are mean±SE, and followed by different lowercase letters in the same column indicate significant different between control and parasitization at the 0.05 level by Compare-*t* test.

### 3 讨论

淡足侧沟茧蜂寄生甜菜夜蛾后, 寄主幼虫血淋巴中的 SOD、CAT、POD 活力均明显升高, 这与冯从经等 (2002) 报道的腰带长体茧蜂 *Macrocentrus cingulum* Brischke 寄生亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* (Guenée) 幼虫 5 龄幼虫后体内 CAT、SOD、POD 3 种保护酶活性较对照明显升高的结论一致。然而, 被寄生的寄主保护酶活性变化, 在不同寄生蜂-寄主体系中研究结果有差异。例如, 椰心叶甲 *Brontispa longissimi* (Gestro) 被椰甲截脉姬小蜂 *Asecodes hispinarum* Bouek 寄生后, 其幼虫体内 POD 和 CAT 活性均呈先升高后下降趋势 (宋晓君等, 2002); 半闭弯尾姬蜂 *Diadegma semiclausum* Hellen 寄生小菜蛾 *Plutella xylostella* (Linnaeus) 后, 寄主幼虫血淋巴中 SOD 的活性在寄生后 12 h 显著低于对照, 12 h 后又恢复正常, 但寄生对 CAT 活力无明显影响, 而 POD 活力显著降低 (黄芳, 2009)。

酚氧化酶 (PO) 在昆虫体内免疫反应中起重要作用, 参与酪氨酸代谢, 从而参与了寄主的细胞免疫, 在黑色素的合成中至关重要。甜菜夜蛾被淡足侧沟茧蜂寄生后, 其酚氧化酶活性明显降低, 这引起了其体内黑色素的减少, 进而导致血淋巴失去黑化能力。寄生后 1~3 d, 寄主体内的免疫反应启动, 酚氧化酶也同时被激活, 酚氧化酶活性增加, 阻止寄生蜂入侵寄主体内的能力增强; 寄生后第 4 天开始, 寄主酚氧化酶活性降低, 可能缘于寄生蜂的寄生因子 (毒液、多酚 DNA 等) 强化了对酚氧化酶的抑制作用。冯从经等 (2004) 研究了腰带长体茧蜂 *Macrocentrus cingulum* Brischke 寄生亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* Guenée 后, 幼虫体内酚氧化酶活性下降, 寄生抑制了寄主酚氧化酶的活性, 这与本试验结果相一致。李季生等 (2006) 研究报道了被蝇蛆寄生的家蚕, 血淋巴中酚氧化酶活性在 6 d 内由 7 U/mg 上升到 34 U/mg, 这可能是家蚕排除侵入体内蝇蛆的免疫反应。

溶菌酶 (Lysozyme, LSZ) 破解乙酰氨基多

糖, 然后释放出来, 形成水解酶体系, 能够破坏和消除侵入体内的异物, 担负昆虫肌体内防御功能。本研究中, 淡足侧沟茧蜂寄生后对寄主血淋巴中溶菌酶活性, 随寄生时间的增加而发生明显变化, 寄生后 1~2 d 溶菌酶活性增加, 而寄生后 3~5 d 溶菌酶活性降低, 这和溶菌酶对外界感染所产生的应激反应表现一致。本试验中, 与对照相比, 寄生组血淋巴中溶菌酶活性在寄生后 3~4 d 明显降低, 但第 5 天增加。溶菌酶活性的变化反应是寄主血淋巴中免疫反应的指标, 淡足侧沟茧蜂寄生后, 血淋巴中 LSZ 活性发生变化, 这种变化反应了寄主体内免疫机能的状态。因此, 要彻底弄清外来入侵物对昆虫溶菌酶活性的机制, 需进一步深入研究。

寄主的免疫系统能够保护自身, 防御有害的外源物的攻击和伤害, 但寄生蜂都能找到合适寄生的寄主昆虫, 并能逃避或抑制寄主的免疫反应。这种相容和平衡可能是寄生蜂-寄主之间不断斗争的超各自优势长期进化的结果。

### 参考文献 (References)

- Arakawa T, 2002. Superoxide generative reaction in insect haemolymph and its mimic model system with surfactants *in vitro*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 25(2): 247-253.
- Beauchamp C, Fridovich I, 1971. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochem.*, 44(1): 276-287.
- Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72(1/2): 248-254.
- Feng CJ, Dai HG, Fu WJ, 2002. The activity and tissue specificity of antioxidant enzymes in larvae of *Ostrinia furnacalis* (Guenée) parasitized by *Macrocentrus cingulum* Brischke. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 25(3): 31-35. [冯从经, 戴华国, 符文俊, 2002. 腰带长体茧蜂寄生后亚洲玉米螟体内抗氧化酶活性及组织特异性. *南京农业大学学报* 25(3): 31-35.]
- Feng CJ, Qiu HG, Qiu ZL, Fu WJ, 2004. Effects of parasitism by *Macrocentrus cingulum* Brischke (Hymenoptera: Braconidae) on the activity of phenoloxidase in larvae of the Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis* Guenée (Lepidoptera: Pyralidae). *Acta Entomologica Sinica*, 47(2): 298-304. [冯从经, 邱鸿贵, 邱中良, 符文俊, 2004. 腰带长体茧蜂寄生对亚洲玉米螟幼虫体内酚氧化酶活性的影响. *昆虫学报*, 47(3): 298-304.]
- Grubor-lajsic G, Block W, Telemanic M, Jovanovic A, Stevanovic D,

- Baca F, 1997. Effect of cold acclimation on the antioxidant defense system of two larval Lepidoptera (Noctuidae). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 36(1): 1–10.
- Huang F, 2009. Physiological regulation of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) by *Diadegma semiclausum* (Hymenoptera: Ichneumonidae). Doctoral dissertation. Hangzhou: Zhejiang University. [黄芳, 2009. 半闭弯尾姬蜂调控寄主小菜蛾的生理机制研究. 博士学位论文. 杭州: 浙江大学.]
- Ji XY, Wan NF, Liu J, Jiang JX, 2016. Nucleopolyhedrovirus infection and/or parasitism by *Microplitis pallidipes* affected haemolymph titre of 20-hydroxyecdysone in *Spodoptera exigua* larvae. *Journal of Applied Entomology*, 140: 142–149.
- Ji XY, Yin YY, Wan NF, Tan JC, Jiang JX, 2013. The effect of parasitization by *Microplitis pallidipes* Szepileti (Hymenoptera: Braconidae) on the total protein and sugar and lipid content of *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 50(6): 1637–1642. [季香云, 印杨毅, 万年峰, 谭继才, 蒋杰贤, 2013. 淡足侧沟茧蜂寄生对甜菜夜蛾幼虫血淋巴总糖、蛋白质及虫体脂质含量的影响. 应用昆虫学报, 50(6): 1637–1642.]
- Jiang JX, Bao YB, Ji XY, Wan NF, 2014. Effect of nucleopolyhedrovirus infection of *Spodoptera litura* larvae on host discrimination by *Microplitis pallidipes*. *Biocontrol Science and Technology*, 24: 561–573.
- Jiang JX, Ji XY, Yin YY, Wan NF, 2013. The effect of nucleopolyhedrovirus infection and/or parasitism by *Microplitis pallidipes* on hemolymph proteins, sugars, and lipids in *Spodoptera exigua* larvae. *BioControl*, 58: 777–788.
- Jiang JX, Zeng AP, Ji XY, 2011. Combined effect of nucleopolyhedrovirus and *Microplitis pallidipes* for the control of the beet armyworm, *Spodoptera exigua*. *Pest Management Science*, 67(6): 705–713.
- Li JS, Xia AH, Gao HJ, Hu CY, Mou ZM, 2006. Change of cell and activity of phenoloxidase in *Bombyx mori* parasitized by larvae of *Exorista sorbillans* Wiedemann. *Science of Sericultur*, 32(2): 268–271. [李季生, 夏爱华, 高绘菊, 胡传英, 牟志美, 2006. 蝇蛆寄生对家蚕血细胞和酚氧化酶活性的影响. 蚕业科学, 32(2): 268–271.]
- Liao YZ, Yan SC, Li XP, Cao CW, 2011. Effect of methoxyfenozide on the activities of protective enzymes in larvae of *Lymntria dispar*. *Scientia Slivae Sinicae*, 47(9): 93–99. [廖月枝, 严善春, 李小平, 曹传旺, 2011. 甲氧虫酰肼对舞毒蛾幼虫保护酶活性的影响. 林业科学, 47(9): 93–99.]
- Nappi AJ, Vass E, Frey F, Carton Y, 1995. Superoxide anion generation in *Drosophila* during melanotic encapsulation of parasites. *European Journal of Cell Biology*, 68(4): 450–456.
- Shi CM, 2000. Role of prophenoloxidase activating system in insect immunity. *Entomological Knowledge*, 37(5): 310–314. [时超美, 2000. 昆虫酚氧化酶原活化及其在免疫中的作用. 昆虫知识, 37(5): 310–314.]
- Simon LM, Fatri Z, Jonas DE, Matkovics B, 1974. Study of peroxide metabolism enzymes during the development of *phaseolus vulgaris*. *Biochemistry Physiology*, 166(5/6): 387–392.
- Song XJ, Chen Q, Tan WQ, Tang C, Jin QA, Wen HP, Peng ZQ, 2009. Effect of parasitism by *Asecodes hispinarum* on the activity of some enzymes in larvae of *Brontispa longissima*. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 30(5): 699–703. [宋晓君, 陈青, 覃伟全, 唐超, 金启安, 温海波, 彭正强, 2009. 叶甲截脉姬小蜂寄生对椰心叶甲幼虫体内几种酶活性的影响. 热带作物学报, 30(5): 699–703.]
- Wang DA, Wang JY, Chen HY, 2001. Chamber for mass rearing of *Microplitis mediator*. *Chinese Journal of Biological Control*, 17(1): 43–44. [王德安, 王金耀, 陈红印, 2001. 侧沟茧蜂繁殖器的研制及操作规程. 中国生物防治, 17(1): 43–44.]
- Wang LJ, Lv LH, Xie MQ, 2010. Changes of activities of protective enzyme and detoxification enzyme in *Solenopsis invicta* Buren infected by *Beauveria bassiana*. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 29(3): 282–286. [王龙江, 吕利华, 谢梅琼, 何余容, 2010. 红火蚁感染白僵菌后体内保护酶和酯酶活性的变化. 华中农业大学学报, 29(3): 282–286.]
- Yang GP, Liu YD, Hou ML, 2013. Changes of the protein and nucleic acid contents and the activities of protective enzymes in diapausing larvae of the rice stem borer, *Chilo suppressalis* (Walker) (Lepidoptera: Crambidae). *Acta Entomologica Sinica*, 56(3): 251–256. [杨光平, 刘玉娣, 侯茂林, 2013. 二化螟滞育幼虫的蛋白和核算含量以及保护酶活性的变化. 昆虫学报, 56(3): 251–256.]
- Yin LH, Wang CZ, 2001. The effect of parasitization by *Campoletis chloridae* Uchida (Hymenoptera: Ichneumonidae) on the activities phenoloxidase in the hemolymph of larval *Helicoverpa armigera* Hubner. *Chinese Science Bulletin*, 46(15): 1303–1307. [尹丽红, 王琛柱, 2001. 棉铃虫齿唇姬蜂对棉铃虫血淋巴酚氧化酶的影响. 科学通报, 46(5): 1303–1307.]
- Zeng AP, Wang KW, Jiang JX, Ji XY, You LS, 2005. On the Bionomics of *Microplitis pallidipes*. *Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences)*, 31(5): 502–505. [曾爱平, 王奎武, 蒋杰贤, 季香云, 游兰韶, 2005. 淡足侧沟茧蜂生物学特性研究. 湖南农业大学学报(自然科学版), 31(5): 502–505.]
- Zhang YJ, Wang GF, Wu QJ, 2003. The toxicity of spinosad to beet armyworm and its effect on endogenous enzymes of protective system. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 5(3): 31–38. [张友军, 王光锋, 吴青君等, 2003. 多杀菌素对不同发育阶段甜菜夜蛾的毒力及其体内超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和过氧化物酶的影响. 农药学报, 5(3): 31–38.]