

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*

季香云^{1,2} 印杨毅² 万年峰² 谭继才¹ 蒋杰贤^{2**}

(1. 湖南农业大学生物安全科学技术学院 长沙 410128;

2. 上海市农业科学院生态环境保护研究所/上海市设施园艺技术重点实验室 上海 201403)

摘要 为探讨淡足侧沟茧蜂 *Microplitis pallidipes* Szepligeti 调控寄主的生理机制,测定了淡足侧沟茧蜂寄生后,甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* (Hübner) 幼虫血淋巴总糖、蛋白质及虫体脂类含量的变化。研究表明,寄生后连续 5 d 的观察时间内,甜菜夜蛾幼虫血淋巴总糖含量从寄生后第 1 天开始就高于未寄生寄主幼虫,且在寄生后第 2 至 5 天达到显著水平;除寄生后第 3 天外,被寄生寄主幼虫血淋巴总蛋白质含量始终低于未寄生幼虫,且在寄生后第 1、4、5 天达到显著水平;甜菜夜蛾被寄生后,虫体脂质含量始终高于未寄生幼虫,且从寄生后第 2 天开始达到显著水平。本研究揭示,淡足侧沟茧蜂寄生刺激了寄主甜菜夜蛾幼虫血淋巴总糖合成,但抑制了其蛋白质合成,同时也刺激了甜菜夜蛾虫体脂质合成。

关键词 淡足侧沟茧蜂, 甜菜夜蛾, 总糖, 蛋白质, 脂质, 血淋巴

The effect of parasitization by *Microplitis pallidipes* Szepligeti (Hymenoptera: Braconidae) on the total protein and sugar and lipid content of *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae

Ji Xiang-Yun^{1,2} YIN Yang-Yi² WAN Nian-Feng² TAN Ji-Cai¹ JIANG Jie-Xian^{2**}

(1. College of Bio-safety Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China;

2. Ecological Environmental Protection Research Institute, Shanghai Academy of Agricultural Sciences/Shanghai Key Laboratory of Protected Horticultural Technology, Shanghai 201403, China)

Abstract To discuss the physiological effects of parasitization by parasitoids on host larvae, we studied the effect of the parasitism by *Microplitis pallidipes* Szepligeti on the total protein concentration and sugar concentration in the hemolymph, and the lipid content of *Spodoptera exigua* (Hübner) larvae. The results indicated that the total sugar concentration in the hemolymph began to increase from day 1 after parasitization and were significantly greater, on days 2 and 5, total hemolymph protein was consistently lower in the parasitized than unparasitized group and these differences were significant on days 1, 4 and 5. The lipid content of parasitized larvae was consistently higher than that of unparasitized larvae and this difference began to be significant from day 2 after parasitization. Our results indicated that parasitization by *M. pallidipes* stimulated total sugar synthesis but inhibited protein synthesis in hemolymph, and meanwhile stimulated the lipid synthesis in larvae of *S. exigua*.

Key words *Microplitis pallidipes*, *Spodoptera exigua*, parasitization, total sugar, protein, lipid, hemolymph

寄生蜂寄生后能有效调控寄主营养代谢,使其有利于寄生蜂子代的生长发育 (Vinson and

Iwantsch, 1980)。为了满足自身营养和生长发育需求,寄生蜂需要从寄主血淋巴中直接获取营养

* 资助项目: 国家自然科学基金 (31171904); 上海市科委青年科技启明星计划 (12QB1402500); 上海市科委重点基础研究 (11JC1411500); 上海市科委科技专项 (123919N0400)。

** 通讯作者, E-mail: jiangjiexian@163.com

收稿日期: 2013-04-17, 接受日期: 2013-08-16

物质或以寄主组织为营养源,进而适应和调节寄主营养组份(Thompson,1983;Consoli and Vinson,2002;Consoli *et al.*,2005)。寄生蜂寄生后引起寄主营养代谢的变化一直是昆虫生理学和生物防治研究的热点之一,目前的报道主要集中在蛹期和幼虫期寄生蜂的寄生调节机制(Nakamatsu *et al.*,2001;韩成香,2008;汪海燕,2006)。

淡足侧沟茧蜂 *Microplitis pallidipes* Szepligeti, 是夜蛾科低龄幼虫的寄生蜂,在甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* Hiibner 自然种群数量调节中有重要作用((Jiang *et al.*,2011)。目前,淡足侧沟茧蜂寄生甜菜夜蛾体系中,该蜂寄生后引起寄主甜菜夜蛾生理变化以及利用该蜂防治甜菜夜蛾的田间实践有所报道(曾爱平等,2010;季香云等,2011),但鲜见该蜂寄生对甜菜夜蛾营养代谢的影响。因此,本研究探讨了淡足侧沟茧蜂寄生对甜菜夜蛾幼虫血淋巴总糖和蛋白质以及虫体脂质含量的影响,旨在为了解淡足侧沟茧蜂调控寄主甜菜夜蛾的生理机制积累资料。

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地,在人工气候培养箱[(28±1)℃、14L:10D、RH=80%±5%]内用自制的人工饲料(Jiang *et al.*,2011)继代饲养7~9代。

饲养时,甜菜夜蛾化蛹后,将蛹转移到自制产卵笼中羽化,并提供产卵的介质。成虫羽化后,用10%的蜂蜜水饲喂。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。参照王德安等(2001)的方法在繁蜂器中繁殖淡足侧沟茧蜂,蜂虫比约为1:50。淡足侧沟茧蜂羽化后,饲喂10%蜂蜜水,交配12h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

淡足侧沟茧蜂对甜菜夜蛾的寄生:采用试管寄生与群体寄生方法,每个试管接入10头2龄末甜菜夜蛾幼虫与一头交配过的淡足侧沟茧蜂雌蜂,观察寄生蜂对寄主的叮刺情况,叮刺2次以上被视为寄生(用于试验第1、2天的血淋巴提取用);在繁蜂箱内以1:50的比例接入交配过的淡

足侧沟茧蜂雌蜂与2龄末甜菜夜蛾幼虫,以少量新鲜菜叶饲养甜菜夜蛾幼虫,淡足侧沟茧蜂以10%蜂蜜水喂养,在淡足侧沟茧蜂寄生甜菜夜蛾24h后(由于寄生后第3天能用肉眼观察到寄生情况,群体寄生幼虫用于第3天之后的血淋巴提取,确保试验用虫均被寄生),将被寄生的甜菜夜蛾幼虫取出,放入装有有人工饲料的试管中饲养。试验设置20对蜂寄生甜菜夜蛾,另设大小基本一致、同龄期末寄生甜菜夜蛾幼虫为对照。处理和对照均放置上述条件的培养箱内饲养。寄生后连续5d测定被寄生和未寄生甜菜夜蛾幼虫血淋巴中总糖和蛋白质以及虫体脂质含量。具体试验方法如下。

1.2.1 甜菜夜蛾幼虫血淋巴收集 各处理组幼虫用75%乙醇消毒、蒸馏水清洗后滤纸吸干虫体,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(100 mL蒸馏水中含NaCl 0.9 g、KCl 0.942 g、CaCl₂ 0.082 g、EDTA 2 g磷酸缓冲液配备)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/pm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(李秀花等,2011)。

1.2.2 甜菜夜蛾幼虫血淋巴总糖含量测定 用蒽酮比色测定血淋巴中总糖含量(Roe,1955)。在玻璃管(100 mm×13 mm)中用蒽酮试剂混合血淋巴,立即在100℃下水浴15 min显色。冷却样品,在光谱为620 nm下读取吸光度OD。以葡萄糖为标准样品,制备标准曲线。重复6次。

1.2.3 甜菜夜蛾幼虫血淋巴总蛋白质含量测定 血淋巴中总蛋白质含量测定方法参照Bradford(1976)。配制50 mL 0.15 mol/L NaCl和5 mL 1 μg/μL牛血清白蛋白溶液,取不同数量的牛血清白蛋白,分别与NaCl及蛋白溶液按比例混匀,在595 nm光谱下测定吸光度。以牛血清蛋白为标准蛋白,制备标准曲线,重复6次(Nakamatsu and Tanaka,2004)。

1.2.4 甜菜夜蛾幼虫虫体脂质含量测定 虫体脂质含量测定方法参照Kostal等(1998)。幼虫置于干燥箱60℃恒温干燥48 h后称其干重(DW),将已测定干重的幼虫个体制备成匀浆液,用氯仿:甲醇=2:1的溶液抽取,2 600 r/min离心10 min,移去上清液重复抽取2次后,将沉淀物于60℃恒温干燥72 h,测定其净干重(lean dry weight,

LDW), 脂质含量 (%) = $[(DW-LDW)/DW] \times 100$ 。每个处理重复 30 次。

1.3 数据处理

用 SPSS16.0 软件, *compaired-t* 检验比较寄生和未寄生甜菜夜蛾幼虫血淋巴总糖、蛋白质及虫体脂质含量在 5% 水平上的差异。

2 结果与分析

2.1 淡足侧沟茧蜂寄生对甜菜夜蛾幼虫血淋巴总糖含量的影响

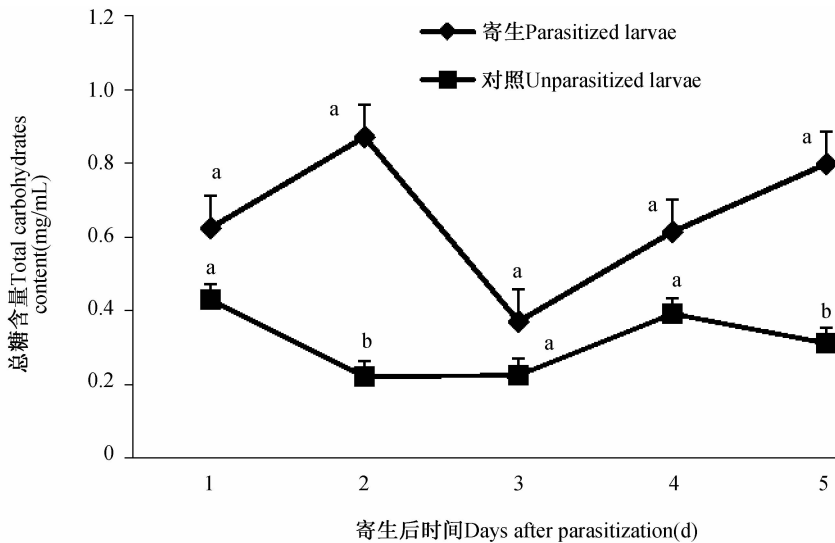


图 1 甜菜夜蛾幼虫被淡足侧沟茧蜂寄生后, 血淋巴总糖含量的变化

Fig. 1 Changes of the total sugar concentration in the hemolymph of *Spodoptera exigua* parasitized by *Microplitis pallidipes*

图中每条竖线表示平均值 \pm 标准误。标有不同字母表示平均数在 5% 水平上差异显著, 下图同。

Vertical lines on each point indicate mean \pm SE, and with different letters indicate that the mean are significantly different at 0.05 level. The same below.

2.2 被淡足侧沟茧蜂寄生的甜菜夜蛾幼虫血淋巴总蛋白质含量的变化

由图 2 可知, 淡足侧沟茧蜂寄生总体上抑制了寄主甜菜夜蛾幼虫血淋巴总蛋白质含量。除寄生后第 3 天, 被寄生甜菜夜蛾幼虫血淋巴总蛋白质含量始终小于未寄生幼虫, 且在寄生后第 1、4、5 天达到显著水平。在连续 5 d 的观察时间内, 被寄生的甜菜夜蛾幼虫血淋巴总蛋白质含量, 从寄生后第 1 天开始就逐渐下降, 最低值为 1.6 mg/mL; 而未寄生甜菜夜蛾幼虫血淋巴总蛋白质含量, 在处理前 3 d 逐渐下降, 至第 4 天趋于稳定, 其最

由图 1 可知, 在连续 5 d 的观察时间内, 被寄生甜菜夜蛾幼虫血淋巴总糖含量从寄生后第 1 天开始就大于未寄生甜菜夜蛾幼虫, 且在寄生后第 2、5 天达到显著水平, 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总糖含量。在整个观察时间内, 未寄生甜菜夜蛾血淋巴总糖含量维持在相对稳定的水平, 而寄生甜菜夜蛾血淋巴总糖含量波动相对较大, 处理后前 2 d 逐渐上升, 至第 3 天骤降至 0.37 mg/mL, 随后又逐渐增大。

高值和最低值分别为 16.5、5.8 mg/mL。

2.3 淡足侧沟茧蜂寄生对甜菜夜蛾幼虫虫体脂质含量的影响

由图 3 可知, 淡足侧沟茧蜂寄生甜菜夜蛾幼虫后, 其寄主幼虫体内脂质含量始终高于未寄生幼虫, 且从寄生后第 2 天开始, 有显著差异, 表明淡足侧沟茧蜂寄生明显增加了甜菜夜蛾幼虫虫体脂质含量。甜菜夜蛾被寄生后, 虫体脂质含量逐渐下降, 而未寄生虫体脂质含量呈先降后升再降的趋势。

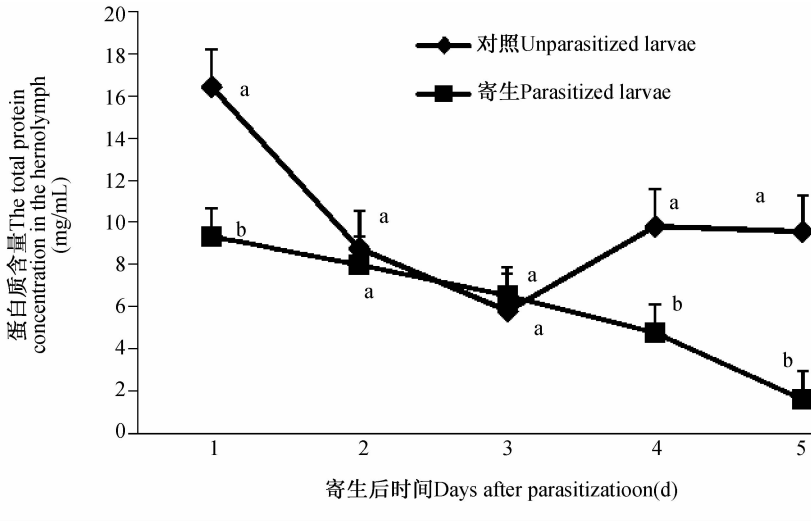


图 2 甜菜夜蛾幼虫被淡足侧沟茧蜂寄生后,血淋巴总蛋白质含量的变化

Fig. 2 Changes of the total protein concentration in the hemolymph of *Spodoptera exigua* parasitized by *Microplitis pallidipes*

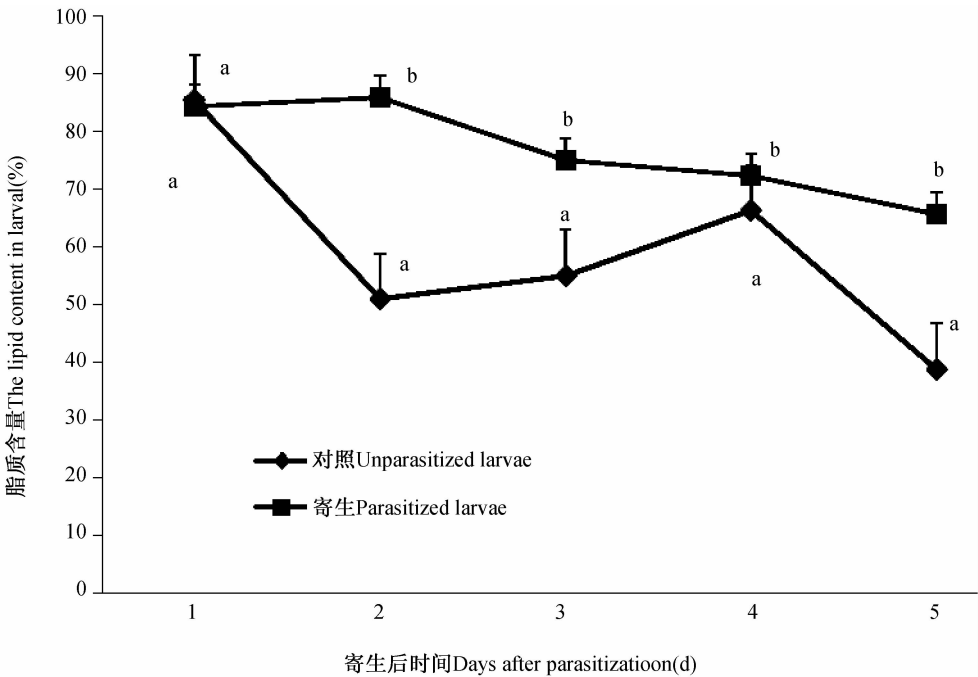


图 3 甜菜夜蛾幼虫被淡足侧沟茧蜂寄生后,幼虫虫体脂质含量的变化

Fig. 3 Changes of the lipid content in larval *Spodoptera exigua* parasitized by *Microplitis pallidipes*

3 讨论

有研究表明寄生蜂寄生后寄主幼虫血淋巴蛋白质含量明显降低,这在棉铃虫齿唇姬蜂 *Campoletis sonorensis* Uchida 寄生烟芽夜蛾 *Heliothis*

virescens (Fabricius)、棉大卷螟甲腹茧蜂 *Chelonus inanitus* (L.) 寄生粘虫 *Spodoptera littoralis* (Boisduval)、红足侧沟茧蜂 *Microplitis croceipes* (Cresson.) 寄生烟芽夜蛾 *Heliothis virescens* (Fabricius) 等研究中均有报道 (Shelby and Webb,

1997; Jorlfors *et al.*, 1997; Kaeslina *et al.*, 2005), 与本研究结果相一致。淡足侧沟茧蜂寄生甜菜夜蛾幼虫后第2天开始陆续孵化, 寄生蜂幼蜂在寄主幼虫体内的直接取食或寄生蜂的寄生间接影响了寄主体内蛋白代谢物质的合成, 寄主自身营养物质缺乏, 其血淋巴蛋白质含量下降。然而, 被寄生甜菜夜蛾幼虫血淋巴总蛋白含量在寄生后第3天略高于寄生幼虫, 这可能是淡足侧沟茧蜂寄生甜菜夜蛾幼虫后诱使寄主体内产生了特异性蛋白, Lee and Kim (2008) 证实了在菜蛾绒茧蜂 *Cotesia plutellae* Kurdjumov 寄生小菜蛾 *Plutella xylostella* (L.) 后, 寄主体内产生了此类特异性蛋白。

在寄生蜂幼虫发育后期寄主血淋巴总糖浓度下降被认为是群居性寄生蜂寄生模式的结果, 而独居性寄生蜂寄生后一般会引起寄主血淋巴糖类浓度上升 (Thompson, 1993; Dahlman and Vinson, 1976), 这与本研究结果相吻合。而淡足侧沟茧蜂寄生甜菜夜蛾幼虫后, 第1天开始寄主幼虫血淋巴总糖浓度就大于未寄生幼虫, 这与蛹寄生蜂寄生后寄主血淋巴含量先上升后下降的结果不同, 吕慧平等(2000)认为菜粉蝶 *Pieris rapae* (L.) 蛹被蝶蛹金小蜂 *Pteromalus puparum* L. 寄生后前2 d 内其寄生蛹血淋巴总糖含量显著高于非寄生蛹, 而在寄生后第3至5天恰好相反。说明寄生对寄主血淋巴糖类代谢的差异性可能还与寄生蜂的取食习性有关, 如有些寄生蜂幼虫从寄主血淋巴中获取营养, 有些则直接取食寄主体内组织。淡足侧沟茧蜂幼虫在甜菜夜蛾幼虫体内获取营养的方式属于哪一种, 尚需进一步研究。

寄主幼虫被寄生后, 其体内脂质一般会降低, 这可能与寄主体内可利用的不饱和脂肪酸的减少或脂蛋白合成的抑制有关 (Hayakawa, 1986)。Bischof and Ortel (1996) 研究表明茧蜂 *Glyptapanteles liparidis* Bouché 寄生舞毒蛾 *Lymantria dispar* (Linnaeus) 幼虫后寄主脂质含量显著下降, 淡足侧沟茧蜂寄生甜菜夜蛾幼虫后其虫体脂质含量从寄生后第2天开始就显著高于未寄生寄主, 具体原因有待进一步探讨。

参考文献 (References)

Bischof C, Ortel J, 1996. The effects of parasitism by *Glyptapanteles liparidis* (Braconidae: Hymenoptera) on the

hemolymph and total body composition of gypsy moth larvae (*Lymantria dispar*, Lymantriida: Lepidoptera). *Parasitology Research*, 82:687 - 692.

Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation microgram quantities of protein utilizing the principle of proteindye binding. *Analytical Biochemistry*, 72:248 - 254.

Consoli FL, Brandt SL, Coudron TA, Vinson SB, 2005. Host regulation and release of parasitism-specific proteins in the system *Toxoneuron nigriceps*-*Heliothis virescens*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 142:181 - 191.

Consoli FL, Vinson SB, 2002. Larval development and feeding behavior of the wing morphs of *Melittobia digitata* Dahms (Hymenoptera: Eulophidae). *Journal of Hymenopteran Research*, 11:188 - 196.

Dahlman DL, Vinson SB, 1976. Trehalose level in the hemolymph of *Heliothis virescens* parasitized by *Campoletis sonorensis*. *Annals of the Entomological Society of America*, 69:523 - 524.

Hayakawa Y, 1986. Inhibition of lipid transport in insects by a parasite factor. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 87:279 - 283.

Jiang JX, Zeng AP, Ji XY, Wan NF, Chen XQ, 2011. Combined effect of nucleopolyhedrovirus and *Microplitis pallidipes* for the control of the beet armyworm, *Spodoptera exigua*. *Pest Management Science*, 67:705 - 713.

Jorlfors UE, Dahlman DL, Zhang D, 1997. Effects of *Microplitis croceipes* teratocytes on host haemolymph protein content and fat body proliferation. *Journal of Insect Physiology*, 43:577 - 585.

Kaeslina M, Pfister-Wilhelm R, Molina D, Lanzrein B, 2005. Changes in the haemolymph proteome of *Spodoptera littoralis* induced by the parasitoid *Chelonus inanitus* or its polydnavirus and physiological implications. *Journal of Insect Physiology*, 51:975 - 988.

Kostal V, Sula J, Simek P, 1998. Physiology of drought tolerance and cold hardiness of the Mediterranean tiger moth *Cymbalophora pudica* during summer diapause. *Journal of Insect Physiology*, 44(2):165 - 173.

Lee S, Kim Y, 2008. Two homologous parasitism-specific proteins encoded in *Cotesia plutellae* bracovirus and their expression profiles in parasitized *Plutella xylostella*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 67:157 - 171.

Nakamatsu Y, Gytoku Y, Tanaka T, 2001. The endoparasitoid *Cotesia kariyai* (Ck) regulates the growth and metabolic efficiency of *Pseudaletia separata* larvae by venom and Ck polydnavirus. *Journal of Insect Physiology*,

- 47:573 - 584.
- Nakamatsu Y, Tanaka T, 2004. Correlation between concentration of hemolymph nutrients and amount of fat body consumed in lightly and heavily parasitized hosts (*Pseudaletia separata*). *Journal of Insect Physiology*, 50: 135 - 141.
- Roe JH, 1955. The determination of sugar in blood fluid and spinal fluid with anthrone reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 212:335 - 343.
- Shelby KS, Webb BA, 1997. Polydnavirus infection inhibits translation of specific growth-associated host proteins. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 27:263 - 270.
- Thompson SN, 1983. Biochemical and physiological effects of metazoan endoparasites on their host species. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 74:183 - 211.
- Thompson SN, 1993. Redirection of host metabolism and effects on parasite nutrition// Beckage NE, Thompson SN, Federici BA (eds.). *Parasites and Pathogens of Insects*, vol. 1. Academic Press, San Diego, CA, USA. 125 - 144.
- Vinson SB, Iwantsch GF, 1980. Host regulation by insect parasitoids. *Quarterly Review of Biology*, 55:143 - 165.
- 韩成香, 方琦, 李凯, 胡萃, 叶恭银, 2008. 丽蝇蛹集金小蜂寄生对寄主蛹可溶性蛋白与芳基蛋白组成与含量的影响. *昆虫学报*, 51(10):1003 - 1010.
- 季香云, 化丽丹, 蒋杰贤, 万年峰, 杨建军, 2011. 温度和光周期对淡足侧沟茧蜂寄生和雌性比率的影响. *应用昆虫学报*, 2:370 - 374.
- 李秀花, 姚洪渭, 叶恭银, 2011. 二化螟盘绒茧蜂寄生对寄主二化螟幼虫免疫反应的影响. *植物保护学报*, 38(4):313 - 319.
- 吕慧平, 蔡峻, 叶恭银, 徐红星, 胡萃, 2000. 寄生对越冬代菜粉蝶蛹血淋巴中蛋白质和糖类代谢的影响. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 26(6):611 - 615.
- 汪海燕, 余虹, 万志伟, 徐鹏, 陈学新, 2006. 菜蛾盘绒茧蜂对寄主小菜蛾幼虫营养的调节和利用. *昆虫学报*, 49(4):574 - 581.
- 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.
- 曾爱平, 蒋杰贤, 季香云, 黄志英, 游兰韶, 2010. 甜菜夜蛾被淡足侧沟茧蜂寄生后的生理变化. *中国农学通报*, 26(8):216 - 220.