

幼期薜荔传粉榕小蜂与虫瘿之间的协同发育*

包甜甜^{1**} 吴文珊^{1***} 陈友铃¹ 吴婷婷¹ 张兴坦² 曾喜育³

(1. 福建师范大学生命科学学院, 福建省发育与神经生物学重点实验室, 福州 350117;

2. 福建农林大学海峡联合研究院基因组与生物技术中心, 福州 350002; 3. 台湾中兴大学森林与自然资源学系, 台中 60004)

摘要 【目的】研究幼期薜荔传粉榕小蜂 *Wiebesia pumilae* (Hill) Wiebes 及其与虫瘿的协同发育, 为寄生蜂发育生物学研究提供理论依据。【方法】在近百日的薜荔榕小蜂幼期发育过程中, 每间隔 3 d 采集 5 个已被产卵的薜荔榕果, 分别测量果径、虫瘿层高、虫瘿直径和榕小蜂体长, 观测蜂-瘿协同发育动态。

【结果】薜荔传粉榕小蜂的幼虫期分为 5 龄, 无法分辨雌雄, 且形态特征没有明显分化, 不同龄期幼虫的体长差异显著 ($P < 0.05$)。幼虫结构包括体壁(白色)、体节、口器、中肠(黄色)。蛹期分为前期蛹、中期蛹和后期蛹 3 个阶段, 雌雄蛹期异形分化明显, 复眼最早呈现色彩, 雄蛹发育早于雌蛹 1–3 d。虫瘿由表皮层、保护层、内皮层、营养层和瘿室组成, 首次发现在卵孵化期坚硬的珠心组织快速转化成由薄壁细胞组成的营养组织, 幼虫以营养组织分泌的营养液为食, 而非直接啃食植物组织。榕小蜂幼虫体长和虫瘿直径在榕小蜂发育幼虫期均呈双 S 型曲线增长, 虫瘿增长先于幼虫体长增长。虫瘿层高度和薜荔果径在幼虫期和蛹期的发育过程中保持持续增长趋势, 为榕小蜂发育提供生长空间。【结论】本研究明确了薜荔传粉榕小蜂各虫态的形态特征, 以及幼虫与虫瘿间的营养联结与协同发育动态。

关键词 幼期; 虫瘿; 形态特征; 营养联结; 协同发育

Symbiosis between the fig-wasp *Wiebesia pumilae* and galls

BAO Tian-Tian^{1**} WU Wen-Shan^{1***} CHEN You-Ling¹
WU Ting-Ting¹ ZHANG Xing-Tan² ZENG Hsy-Yu³

(1. Provincial Key Laboratory for Developmental Biology and Neurosciences, College of Life Science, Fujian Normal University, Fuzhou 350117, China; 2. FAFU and UIUC-SIB Joint Center for Genomics and Biotechnology, Fujian Provincial Key Laboratory of

Haixia Applied Plant Systems Biology, Key Laboratory of Genetics, Breeding and Multiple Utilization of Corps,

Ministry of Education, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China;

3. Department of Forestry and Natural Resources, Taiwan Chung-Hsing University, Taichung 60004, China)

Abstract 【Objectives】The developmental dynamics of young *Wiebesia pumilae* (Hill) Wiebes fig wasps and the galls they live in was investigated. 【Methods】During the c. 100 day developmental period of young fig-wasps, five figs on which wasp eggs had been laid were collected every three days, and their diameter, gall layer height, gall diameter, and wasps' body length, measured. 【Results】Although larvae of different ages did not differ obviously in morphology, larvae could be divided into 5 instars on the basis of body length, which was significantly different among different instars ($P < 0.05$). Larval body parts include the body wall (white), body segments, mouthparts and midgut (yellow). Three pupal stages were identified; primary, intermediate and mature. Male and female pupae were heteromorphic and male pupae developed 1–3 days earlier than female pupae. The compound eyes of pupae were the first to change color. Galls consist of epidermis, protective layer, endodermis, nutritive tissue and the gall chamber. The hard gall nucellus rapidly changed into soft nutritious tissue comprised of parenchyma cells when wasp eggs were hatching, and wasp larvae feed on the nutritious solution secreted by this tissue rather than damaging other plant tissues. Both the body length of larvae and gall diameter conformed to a double S growth curve with

*资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金资助项目 (31670431, 31270440); 福建省自然科学基金资助项目 (2020J01179)

**第一作者 First author, E-mail: 1540383199@qq.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: wuwenshan@126.com

收稿日期 Received: 2020-04-23; 接受日期 Accepted: 2020-10-19

the gall growing faster than the larvae. The gall layer height and fig diameter continued to grow during the larval and pupal stages, so that there was always sufficient space for wasps to develop. **[Conclusion]** Larvae of the fig wasp *W. pumilae* can be divided into 5 instars on the basis of body length and coevolution has led to symbiosis between their development and growth and that of fig galls.

Key words young stage; gall; morphological characteristics; nutritive association; cooperative development

薜荔榕小蜂 *Wiebesia pumilae* (Hill) Wiebes 属膜翅目 Hymenoptera 榕小蜂科 Agaonida, 是薜荔 *Ficus pumila* L. var. *pumila* 的专性传粉蜂, 没有榕小蜂传粉薜荔无法结实, 没有薜荔提供的雌花为产卵场所, 榕小蜂就无法繁殖后代, 榕小蜂与榕树间维持着长期稳定的互利共生关系 (Chen *et al.*, 2016; 杨升等, 2017)。榕小蜂将卵产于薜荔雌花子房的胚珠内, 幼期 (包括幼虫期和蛹期) 榕小蜂生活在子房形成的虫瘿内, 幼虫在虫瘿内取食直至羽化、出飞。榕小蜂发育过程包括卵期、幼虫期、蛹期和成虫期, 由于榕果内部是一个黑暗密闭的环境, 榕小蜂又极小, 故难以直接连续观察, 因此, 有关榕小蜂幼期发育的相关研究鲜有报道。

Joseph (1958) 最早以文字和手绘线图描述了无花果 *Ficus carica* 传粉蜂 *Blastophaga psens* 及其寄生性非传粉榕小蜂 *Philotrypesis caricae* 的初期幼虫、老熟幼虫和预蛹的形态特征; 此后, 直到 2008 年 Jansen-González 和 Sarmiento (2008) 以文字和显微图片简单描述了榕树 *F. andicola* 的传粉榕小蜂 *Pegoscapus bacataensis* 幼虫期发育五阶段的形态特征, 但没有蛹期发育描述; Jia 等 (2014) 对叶榕小蜂 *Ceratosolen solmsi* 从幼虫至蛹期的各发育阶段的形态进行特征描述, 并利用电镜观察了幼虫口器的发育过程。Yadav 和 Borges (2018) 以离体饲养的方法观察了聚果榕 *Ficus racemosa* 的造瘿蜂 *Sycophaga testacea* 和寄生蜂 *Apocrypta* sp., *Apocrypta westwoodi* 幼虫发育的动态变化, 以及造瘿蜂和寄生蜂幼虫营养来源的差异。此外, Galil 等 (1970) 及 Jansen-González 等 (2012, 2014) 通过组织切片的方法观察幼期榕小蜂及其虫瘿发育的变化过程。

薜荔既是热带和亚热带植物生态系统的关键树种, 也是城市垂直绿化的重要树种, 同时薜

荔瘦果果胶低脂低热, 是夏季消暑的上佳饮品, 而薜荔传粉榕小蜂发育与薜荔结实和繁殖息息相关。榕小蜂与榕树的相互关系主要发生在昆虫发育的幼期阶段, 对榕小蜂发育的幼期研究将了解昆虫与植物间的相互作用开辟新的视角。本实验将探讨 (1) 薜荔传粉榕小蜂幼期不同虫态的形态特征和发育历期; (2) 研究榕小蜂发育与虫瘿建成之间的相关性; (3) 了解寄主榕果直径、虫瘿直径和瘿层高度与榕小蜂体长, 协同发育动态, 为榕小蜂生物学特性研究奠定基础, 为深入开展榕-蜂协同进化研究提供科学资料。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

2018 年 7 月 8 日在福建省福州市森林公园 (26°15'N, 119°29'E) 对薜荔幼果 (直径 1.5 cm) 进行标记, 并用尼龙网袋罩住防止其他榕小蜂进入薜荔果内干扰实验, 待榕果散发芳香气味时, 打开网袋放入 20 榕小蜂, 并标记有榕小蜂进入的榕果, 2 d 后开始采样, 在 2018 年 7 月 10 日至 10 月 15 日期间, 每间隔 3 d 采集已被产卵的薜荔榕果 5 个, 带回实验室, 插水培养。

1.2 测量方法

在室内, 用游标卡尺测量薜荔榕果直径 (苞口端与柄端之间的长度) 后, 沿果柄和苞口连线对半切开, 测量虫瘿层高 (虫瘿柄+虫瘿纵径)。在解剖镜下, 取出虫瘿粒, 并测量虫瘿纵径 (虫瘿与虫瘿柄连接处至虫瘿顶端间长度)。用昆虫针将虫瘿轻轻划开, 取出榕小蜂, 并置于体式显微镜下观察, 并利用 SteREO Lumar V12 成像系统拍照, 再用 Image-Proplus 5.1 显微测量系统测量榕小蜂体长。

1.3 数据统计与分析

共观测到具有有效数据的幼虫期虫体 447 只, 蛹期虫体 182 只。应用 SPSS21.0 软件统计果径、虫瘿层高、虫瘿纵径和榕小蜂体长的生长量(第 N 天的长度值)和增长量(第 N+3 天比第 N 天增加的长度值), 并绘制生长曲线, 幼虫期和蛹期分段拟合。

2 结果与分析

2.1 卵的形态特征

卵位于子房内靠近花柱基部的珠心与珠被之间, 通常一个胚珠内产一个卵。卵透明, 长梭

形, 后端具有一个细长卵柄(图 1: A)。卵长为 $(170.26 \pm 4.91) \mu\text{m}$; 卵宽为 $(60.63 \pm 1.44) \mu\text{m}$ 。卵表面较为光滑, 无明显凸起物、卵刻纹或卵孔。在高倍镜下可观察到透明卵壳内的胚胎, 随胚胎发育, 卵的颜色逐渐由白色转为浅黄色(图 1: A)。

2.2 幼虫形态特征

薜荔传粉榕小蜂幼虫属于半头无足型幼虫, 头部前半部分骨化, 露出在体外, 后半部分缩进胸内。薜荔传粉榕小蜂幼虫发育分为 5 龄, 除头节外, 具 13 体节(图 2: A), 1 龄和 4 龄体节较不明显。偶尔在虫体末端发现透明皮蜕, 皮蜕与榕果子房组织难以区分, 且易融合。

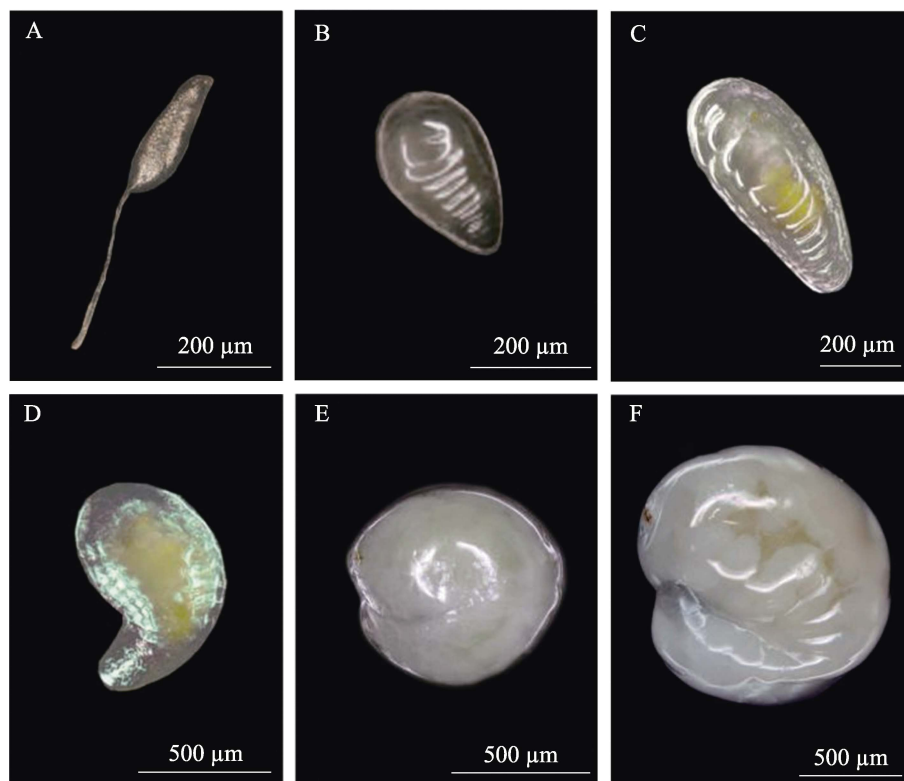


图 1 薜荔传粉榕小蜂各龄幼虫的形态特征

Fig. 1 Morphological characteristics of *Wiebesia pumilae* larva

A. 卵; B. 1 龄幼虫; C. 2 龄幼虫; D. 3 龄幼虫; E. 4 龄幼虫; F. 5 龄幼虫。

A. Egg; B. 1st-instar larva; C. 2nd-instar larva; D. 3rd-instar larva; E. 4th-instar larva; F. 5th-instar larva.

2.2.1 1 龄幼虫 1 龄幼虫呈卵形, 通体透明, 质地柔软, 头端较大, 头壳骨化程度弱。体长 $(241.37 \pm 47.80) \mu\text{m}$ ($n=97$), 头壳宽度 $(41.41 \pm 7.83) \mu\text{m}$ ($n=46$)(图 1: B)。虫体能

轻微蠕动, 解剖镜下无法观察到口器、中肠等结构, 但在显微镜的油镜下可看到口器, 可以隐约观察到黄色的中肠。1 龄幼虫历期为 $(4.29 \pm 5.56) \text{d}$ ($n=73$)。

2.2.2 2 龄幼虫 2 龄幼虫呈长椭圆形, 头部略宽, 尾部较窄。虫体半透明, 体表光滑 (图 1: C)。体长 (421.84 ± 67.22) μm ($n=71$), 头壳宽度 (72.69 ± 10.49) μm ($n=109$)。口器呈浅棕色, 骨化增强出现在上颚, 在油镜下可观察到口器的

吸食运动, 随着进食量的增长, 虫体肌肉组织增多, 体节较为明显, 幼虫背部中央隆起。中肠黄色, 位于虫体的 4-7 体节间 (图 2: B), 中肠蠕动带动虫体蠕动。2 龄幼虫历期为 (13.19 ± 6.07) d ($n=53$)。

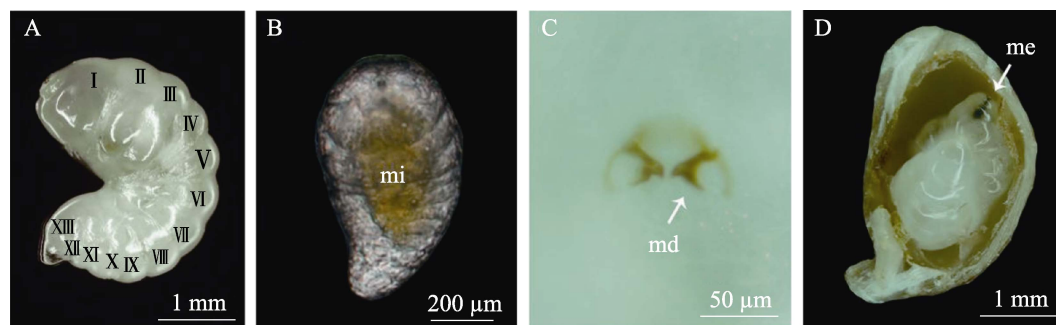


图 2 薛荔传粉榕小蜂幼虫重要细节特征

Fig. 2 Important detail characteristics of *Wiebesia pumilae* larva

A. 5 龄幼虫示 13 体节; B. 2 龄幼虫示黄色中肠; C. 4 龄虫口器的下颚; D. 5 龄末期幼虫口器端可见蛹便。

mi: 中肠; md: 下颚; me: 蛹便。

A. The 13 segments of 5th-instar larva; B. The yellow midgut of 2nd-instar larva; C. The mandible in mouthparts of 4th-instar larva; D. The meconium in mouthparts at terminal 5th-instar. mi: Midgut; md: Mandible; me: Meconium.

2.2.3 3 龄幼虫 3 龄幼虫头部增大, 尾部小且弯曲, 体表半透明 (图 1: D)。体长 (785.79 ± 96.35) μm ($n=89$), 头壳宽度 (116.52 ± 14.30) μm ($n=88$)。幼虫背部中央隆起不明显, 虫体蠕动活跃。口器骨化明显, 可清晰看到下颚。幼虫体内橙黄色中肠行波状运动, 中肠位于虫体的 3-8 体节。虫体体壁开始形成肌肉组织。3 龄幼虫历期为 (6.27 ± 4.64) d ($n=67$)。

2.2.4 4 龄幼虫 4 龄幼虫蜷缩成半球状, 头尾相接, 体壁因肌肉组织逐渐形成 (图 1: E)。体长 (1306.58 ± 201.97) μm ($n=114$), 头壳宽度 (184.53 ± 20.58) μm ($n=103$)。口器的下颚骨化明显, 呈褐黄色 (图 2: C)。在底光照射下, 淡黄色中肠清晰可见, 中肠包裹着食物几乎占据了整个身体, 位于虫体的第 3-11 体节。4 龄幼虫历期为 (24.46 ± 7.22) d ($n=85$)。

2.2.5 5 龄幼虫 5 龄幼虫体极度弯曲, 头尾相接蜷缩成近球状 (图 1: F), 体壁肌肉发达呈白色, 体节明显 (图 2: A)。体长 (2093.56 ± 247.38) μm ($n=76$), 头壳宽度 (269.54 ± 42.84) μm ($n=101$)。中肠被肌肉组织遮挡, 仅隐约可见,

幼虫的头壳和口器皆完全骨化, 口器和虫体运动非常活跃, 可见积存在虫体内的蛹便 (图 2: D)。5 龄幼虫历期为 (8.9 ± 4.19) d ($n=57$)。

2.3 预蛹

预蛹期虫体内部某些组织器官解离, 以自溶方式或由吞噬细胞作用而被破坏, 幼虫口器脱落, 常粘附在虫体上。

预蛹呈白色, 预蛹头尾两端差异较小, C 型弯曲于虫瘿内, 蛹体比 5 龄幼虫稍大, 二者形态相似 (图 3: A)。虫体第 2-3 节膨胀凸起, 将分化出附肢, 腹部有轻微的凹陷, 出现腹部分节的雏形 (图 3: B)。体长 (2011.16 ± 206.15) μm , 宽 (713.49 ± 42.74) μm ($n=30$)。此时榕小蜂幼蜂停止取食, 中肠不再蠕动, 在预蛹末期, 可在虫瘿内壁发现幼虫化蛹排出的蛹便。预蛹发育历期为 (3.74 ± 2.54) d ($n=22$)。

2.4 蛹期形态特征

薛荔传粉榕小蜂为典型的裸蛹, 根据蛹发育的形态特征, 分为初期蛹、中期蛹和成熟蛹三个

时期。榕小蜂发育至初期蛹，雌雄形态特征才开始分化。

2.4.1 初期蛹形态特征 以皮细胞群存在于幼虫体壁下的成虫器官芽 (Imaginal buds) 迅速生长, 可见单眼、复眼、胸、足和翅芽。雌、雄蜂的蛹体体色为白色, 头、胸、腹已分化, 两性蛹体的形态特征已有差异。雌蜂体型圆润, 复眼大, 浅棕色 (图 3: C); 雄蜂体型瘦长, 尾部较为尖细, 复眼小, 无色 (图 3: D)。初期雌蛹发育历期为 (9.31 ± 3.64) d ($n=26$), 雄蛹为 (8.05 ± 3.08) d ($n=23$)。

2.4.2 中期蛹的形态 雌蜂蛹体体色为白色, 复眼渐变为黑色, 翅芽伸出 (图 3: E); 雄蜂虫体的骨化速度比雌蜂快, 雄蜂的复眼出现黑色, 头

部和前翅皆成黄色, 腹部膨大, 尾部尖细且团状蜷缩, 尾部发育未完全 (图 3: F)。雌蜂和雄蜂皆可轻微活动。中期雌蛹发育历期为 (9.25 ± 3.34) d ($n=17$), 雄蛹为 (8.16 ± 3.02) d ($n=19$)。

2.4.3 成熟蛹的形态 榕小蜂成熟蛹期间, 翅和足露于体外, 产卵器形成。雌、雄蜂蛹体体色差异明显, 雌性为黑色, 雄性为黄色, 雄、雌蜂复眼皆为黑色; 雌蜂基本完成形态的分化, 腹部呈膨大, 翅膀盘状折叠, 虫体活动不活跃 (图 3: G); 雄蜂骨化完全, 已有明显的雄性成虫特征。头部、前胸背板、胸足及前足呈金黄色, 尾部尖细, 身体能够轻微的扭动 (图 3: H); 雄蜂羽化时间比雌蜂早 1-2 d, 成熟雌蛹发育历期为 (10.19 ± 5.21) d ($n=13$), 雄蛹为 (9.94 ± 4.97) d ($n=10$)。

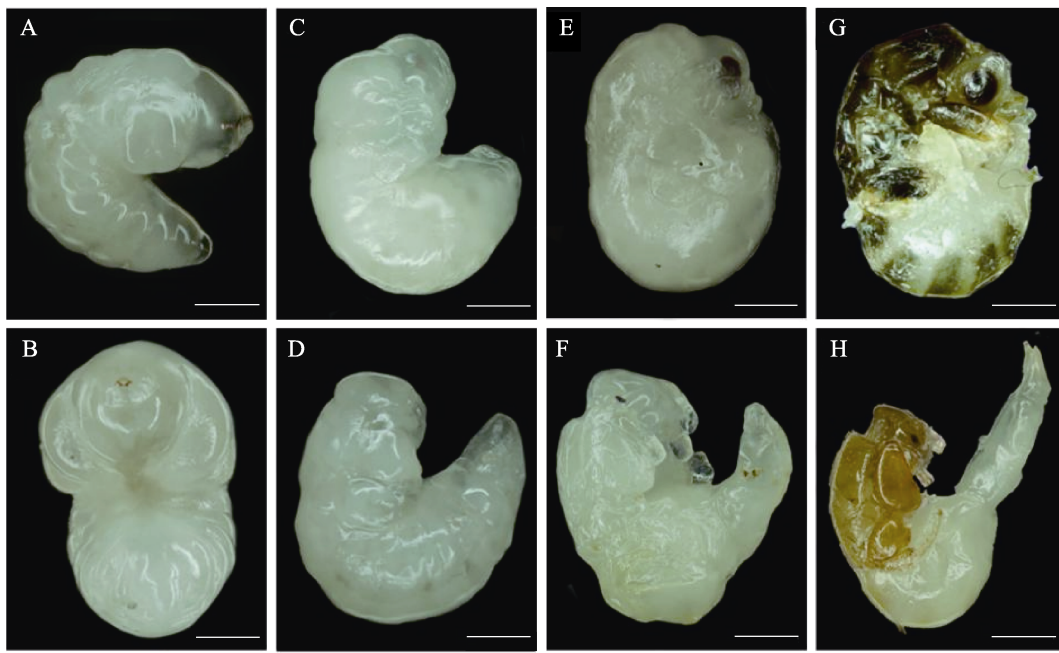


图 3 薜荔传粉榕小蜂雌/雄蛹形态特征比较

Fig. 3 Morphological comparison between male and female pupae of *Wiebesia pumilae*

A. 预蛹侧面观; B. 预蛹的正面观; C. 雌虫的初期蛹; D. 雄虫的初期蛹; E. 雌虫的中期蛹;

F. 雄虫的中期蛹; G. 雌虫的成熟蛹; H. 雄虫的成熟蛹。比例尺=300 μ m。

A. Lateral view of prepupa; B. Elevation of prepupa; C. Primary pupa of female; D. Primary pupa of male;

E. Intermediate pupa of female; F. Intermediate pupa of male; G. Mature of female; H. Mature of male. Scale bar= 300 μ m.

2.5 榕小蜂幼期发育过程中虫瘿结构的变化

虫瘿源于瘿花的子房, 由瘿壳、营养层和瘿室组成, 幼虫位于瘿室中。建群蜂产卵后, 扁圆形的瘿花子房 (图 4: A) 迅速膨大为椭球状虫

瘿 (图 4: B), 虫瘿柄也快速伸长 (图 4: B, G), 珠心细胞急剧膨大且充满液态内含物, 导致坚硬的珠心组织快速转化成由薄壁细胞组成的营养组织, 幼虫以营养组织分泌的营养液为食 (图 4:

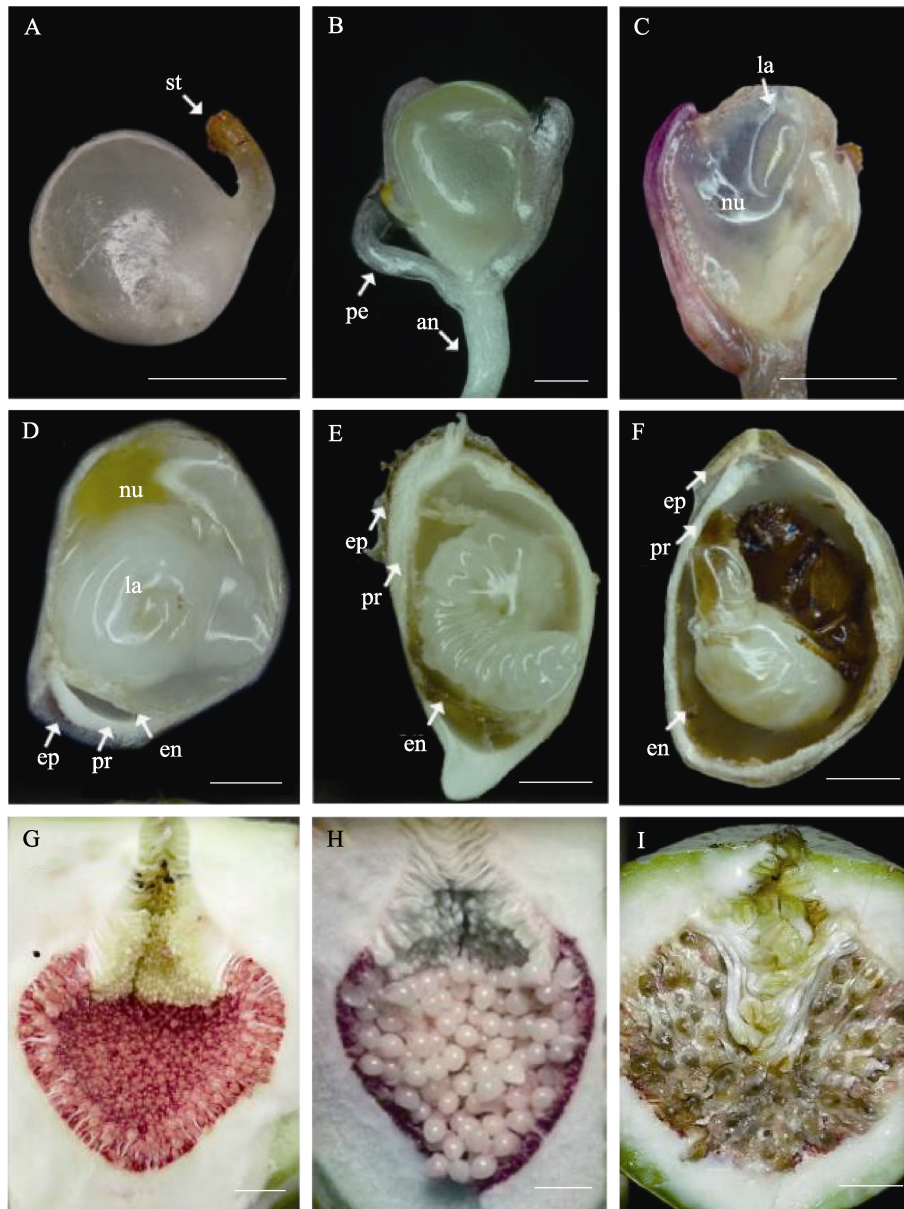


图 4 薛荔传粉榕小蜂发育不同阶段的虫瘿结构

Fig. 4 The gall structure in different stages of development of *Wiebesia pumilae*

A. 未产卵瘿花子房; B. 产卵 2 d 后的虫瘿; C. 2 龄幼虫期虫瘿; D. 4 龄幼虫期虫瘿; E. 5 龄幼虫期虫瘿;

F. 成熟蛹期虫瘿; G. 2 龄幼虫期榕果; H. 5 龄幼虫期榕果; I. 成熟蛹期榕果。比例尺=500 μm。st: 花柱;

pe: 花瓣; an: 花柄; la: 幼虫; ep: 表皮层; pr: 保护层; en: 内皮层; nu: 营养组织。

A. Unlaid eggs flowers ovary; B. Gall after laying eggs 2 days; C. Gall in 2nd-instar larva stage; D. Gall in 4th-instar larva stage; E. Gall in 5th-instar larva stage; F. Gall in mature pupa stage; G. The syconium in 2nd-instar larva stage;

H. The syconium in 5th-instar larva stage; I. The syconium in mature pupa stage. Scale bar= 500 μm.

st: Stigma; pe: Petals; an: Anthocaulus; la: Larvae; ep: Epidermis; pr: Protective layer; en: Endodermis; nu: Nutritive tissue.

B), 而非直接啃食植物组织。在幼虫 1-3 龄期的虫瘿解剖中, 由于薄壁细胞易破裂, 通常观察到幼虫位于的营养组织液中(图 4: C), 幼虫越大, 营养组织含水量越少。4 龄幼虫期营养组织呈黏

胶状(图 4: D), 进入 5 龄幼虫期后营养组织越发粘稠, 在 5 龄幼虫末期营养层消失(图 4: E)。在 1-4 龄幼虫期瘿室极小, 幼虫与营养薄壁组织胶着在一起, 进入 5 龄幼虫期后。随着营养层的

干涸与消失, 瘿室逐渐扩大, 瘿室为榕小蜂提供活动空间。

瘿壳由表皮层、保护层和内皮层组成。虫瘿保护层是瘿壳的骨架, 由子房壁内层分化而来, 在 1-3 龄幼虫期为透明状 (图 4: C), 进入 4 龄幼虫期后明显骨化呈米白色 (图 4: D), 在 4 龄末期完成骨化, 保护层为幼期榕小蜂提供较为安全的生存空间, 免受植物免疫体系干扰, 以及非传粉榕小蜂的重寄生。虫瘿内皮层由珠被分化而来, 在 5 龄幼虫期, 内皮层逐渐脱水成黄褐色黏胶层附于保护层内测; 虫瘿的表皮层由子房壁外层分化而来, 位于保护层外侧, 呈白色透明黏胶层 (图 4: B, D), 在预蛹期渐转黄色 (图 4: E,

H), 至熟蛹期为褐色 (图 4: F, I)。幼期虫瘿的内皮层和表皮层均富含水分, 包被在虫瘿外的花瓣, 以及连接虫瘿与榕果的虫瘿柄, 在榕小蜂发育全过程保持新鲜状态 (图 4: C), 直到榕果成熟苞口开启时才开始脱水、变色和萎蔫, 它们均为蛹期榕小蜂提供湿度保障。

2.6 榕小蜂、虫瘿和榕果之间的协同发育动态

榕小蜂幼虫体长在榕小蜂发育幼虫期均呈双 S 型曲线增长 (图 5: A)。1-2 龄幼虫体长增长缓慢, 3 龄后幼虫体长增长较快, 5 龄幼虫体长达到最大值。预蛹的体长略小于 5 龄幼虫, 预蛹至蛹成熟期间, 蛹体体长较为恒定。

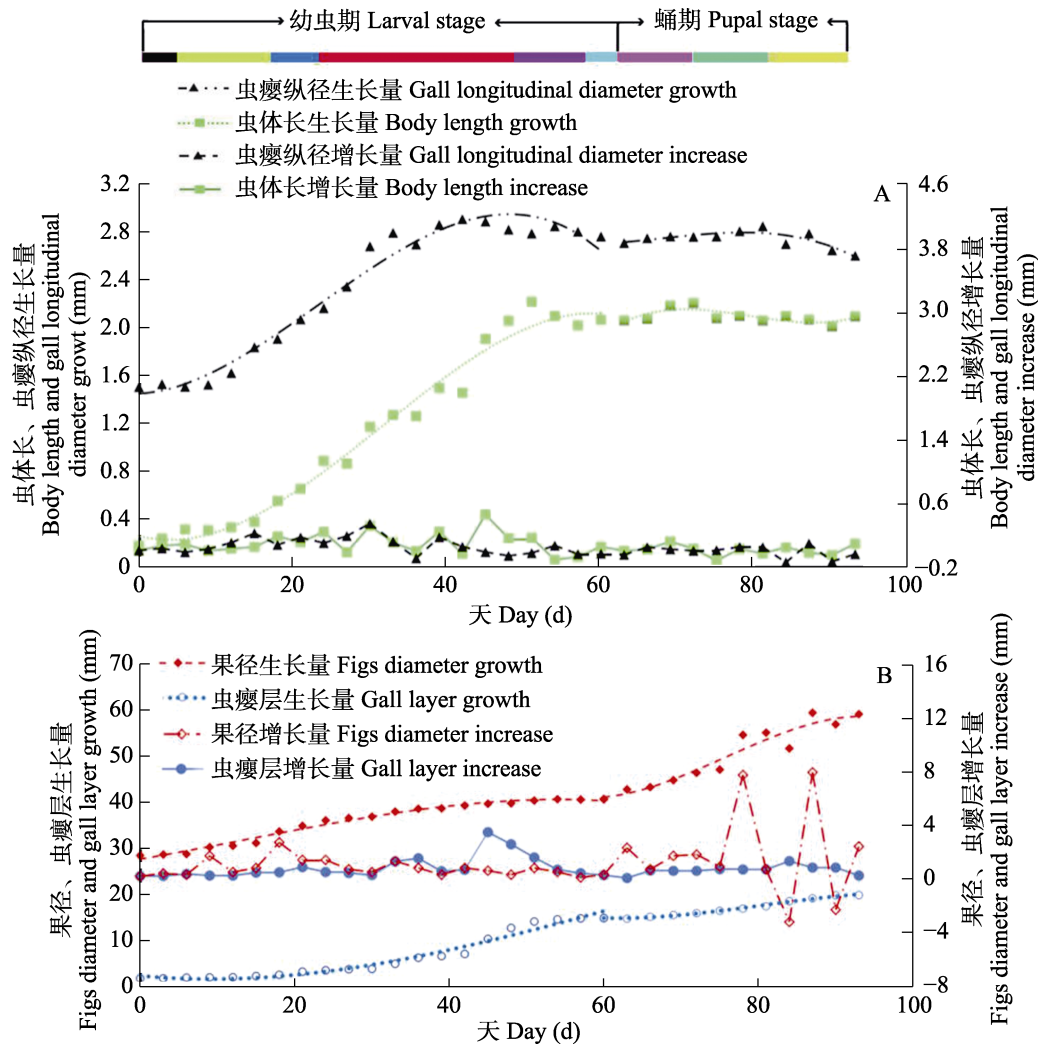


图 5 薊荔传粉榕小蜂体长和虫瘿直径 (A), 虫瘿层高和果径 (B) 的生长曲线

Fig. 5 Growth curve of *Wiebesia pumilae* body length and gall diameter (A), gall height and fruit diameter (B)

虫瘿纵径的增长与榕小蜂幼虫体长的增长趋势一致(图 5: A), 但虫瘿纵径在幼虫 2 龄期就已进入快速增长阶段, 并在 4 龄末期虫瘿体积达到峰值; 在 5 龄幼虫期, 由于幼虫周围营养组织逐渐干涸, 虫瘿略微缩小。蛹期的虫瘿纵径较为恒定, 但在熟蛹期, 可能是虫瘿水分的散失, 虫瘿纵径再次略微缩小。

虫瘿层高度在榕小蜂发育的幼虫期和蛹期均呈双 S 型曲线增长(图 5: B)。在榕小蜂发育的 4 龄幼虫期, 虫瘿层高增幅较大(4 龄初期虫瘿层占满薜荔果腔), 幼虫期的其它时段以及蛹期, 虫瘿层高保持缓慢持续增长的趋势。

薜荔果径在榕小蜂发育幼期(包括幼虫期和蛹期)均呈双 S 型曲线持续增长(图 5: B)。在榕小蜂幼虫发育的 2 龄期, 果径增幅明显较大; 果径在榕小蜂蛹期的涨幅高于幼虫期, 可能是榕小蜂摄食限制了榕果发育; 进入中蛹期后, 果径增长快速增长, 为榕小蜂羽化、交配和出飞预留出活动空间。

3 结论与讨论

薜荔传粉榕小蜂的幼虫期分为 5 龄, 不同龄期幼虫之间体长差异显著($P < 0.05$), 无法分辨雌雄, 但蛹期的雌、雄蛹形态差异明显, 雄蛹发育比雌蛹早 1-3 d。榕小蜂幼虫体长和虫瘿直径在榕小蜂发育幼虫期均呈双 S 型曲线增长, 虫瘿增长先于幼虫体长增长。虫瘿层高度和薜荔果径在幼虫期和蛹期的发育过程中保持持续增长趋势, 为榕小蜂发育提供生长空间。首次发现在卵孵化期坚硬的珠心组织快速转化成由薄壁细胞组成的营养组织, 幼虫以营养组织分泌的营养液为食, 而非直接啃食植物组织。

已知建群榕小蜂在产卵时向植物组织注入产卵分泌物, 即由高分子量的多肽、蛋白质和其他化合物混合组成(Moreau and Guillot, 2005; Asgari and Rivers, 2011), 干扰植物组织发育, 参与免疫应答和营养调控等(Escoubas *et al.*, 2008; Calvete *et al.*, 2009; Fry *et al.*, 2009; Asgari and Rivers, 2011), 并诱导虫瘿形成

(Moreau and Guillot, 2005; Barnewall and Clarck-Floate, 2012); 目前虽然还没有榕小蜂幼虫摄食分泌物参与虫瘿建成的报道, 但近年, 在植食者-植物两极关系研究中, 人们越来越关注植食者唾液所起的作用, 特别是刺吸式昆虫, 其唾液成分不仅与植物抗性反应有关, 还与酶液传导、减弱植物伤信号、营养物质调控, 以及病毒传播等有关(严盈等, 2008; Miles, 1999)。同时, 已检测到膜翅目昆虫的唾液蛋白和多肽在虫瘿组织中的表达, 表明幼虫摄食分泌物可能在虫瘿诱导中发挥作用(Carango *et al.*, 1988; Detoni *et al.*, 2010)。

本研究结果表明, 榕小蜂体长、虫瘿纵径和虫瘿层高在幼虫期均有两次增长阶段, 在幼虫 1-2 龄期为小幅增长, 在 3-4 龄期较大幅增长, 推测产卵分泌物是虫瘿纵径和虫瘿层高在幼虫前期增长的原因, 而幼虫摄食分泌物则是其后期增长的原因。虫瘿纵径最快进入快速增长期, 表明产卵分泌物可能首先作用于虫瘿, 促使虫瘿增长先于幼虫, 为幼虫提供生长条件; 虫瘿纵径在幼虫期增幅显著, 而在蛹期没有明显变化, 也表明了虫瘿建成与建群蜂产卵和榕小蜂幼虫发育密切相关, 而与植物生长的关系不甚密切; 而虫瘿层高在幼虫期和蛹期均有明显变化, 表明虫瘿层高与建群蜂产卵、榕小蜂幼虫和植物生长发育均密切相关。

本实验的蛹期果径生长量起伏较大, 是由于果径观测不在植株上连续进行, 而是测定带回实验室的 5 个榕果的果径平均值, 蛹期后期由于虫瘿数量对果径影响明显, 但挂树榕果已不多, 取样受限, 造成果径波动稍大。扩大实验种群数量, 能够更为精确的反应果径发育动态。

参考文献 (References)

- Asgari S, Rivers DB, 2011. Venom proteins from endoparasitoid wasps and their role in host parasite interactions. *Annual Review Entomology*, 56: 313-335.
- Barnewall EC, Clarck-Floate RAD, 2012. A preliminary histological investigation of gall induction in an unconventional galling system. *Arthropod-Plant Interactions*, 6(3): 449-459.

- Calvete JJ, Sanz L, Angulo Y, Lomonte B, Gutiérrez JM, 2009. Venoms, venomics, antivenomics. *Febs Letter*, 583(11): 1736–1743.
- Carango P, McCrea KD, Abrahamson WG, Chernin MI, 1988. Induction of a 58,000 Dalton protein during goldenrod gall formation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 152 (3): 1348–1352.
- Chen YL, Huang ML, Wu WS, Wang AF, Bao TT, Zheng CF, Chou LS, Tzeng HY, Tu SW, 2016. The floral scent of *Ficus pumila* var. *pumila* and its effect on the choosing behavior of pollinating wasps of *Wiebesia pumilae*. *Acta Ecologica Sinica*, 36(5): 321–326.
- Detoni ML, Vasconcelos EG, Scio E, Aguiar JAK, Isaias RMS, Soares GLG, 2010. Differential biochemical responses of *Calliandra brevipes* (Fabaceae, Mimosoidae) to galling behaviour by *Tanaostigmodes ringueleti* and *T. mecanga* (Hymenoptera, Tanaostigmatidae). *Australian Journal of Botany*, 58(4): 280–285.
- Escoubas P, Quinton L, Nicholson GM, 2008. Venomics: Unravelling the complexity of animal venoms with mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*, 43(3): 279–295.
- Fry BG, Roelants K, Champagne DE, Scheib H, Tyndall JDA, King GF, Nevalainen TJ, Norman JA, Lewis RJ, Norton RS, Renjifo C, Vega RCR, 2009. The toxicogenomic multiverse: Convergent recruitment of proteins into animal venoms. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 10: 483–511.
- Galil J, Dulberger R, Rosen D, 1970. The effect of *Sycophaga sycomori* L. on the structure and development of syconia in *Ficus sycomorus* L. *New Phytologist*, 69(1): 103–111.
- Jansen-González S, Sarmiento CE, 2008. A new species of high mountain andean fig wasp (Hymenoptera: Agaonidae) with a detailed description of its life cycle. *Symbiosis*, 45: 135–141.
- Jansen-González S, Teixeira SDP, Pereira RAS, 2012. Mutualism from the inside: Coordinated development of plant and insect in an active pollinating fig wasp. *Arthropod-Plant Interactions*, 6(4): 601–609.
- Jansen-González S, Teixeira SDP, Kjellberg F, Pereira RAS, 2014. Same but different: Larval development and gall- inducing process of a non-pollinating fig wasp compared to that of pollinating fig-wasps. *Acta Oecologica*, 57(3): 44–50.
- Jia LY, Xiao JH, Niu LM, Ma GC, Fu YG, Dunn DW, Huang DW, 2014. Delimitation and description of the immature stages of a pollinating fig wasp, *Ceratosolen solmsi marchali* Mayr (Hymenoptera: Agaonidae). *Bulletin of Entomological Research*, 104(2): 164–175.
- Joseph KJ, 1958. Recherches sur les chalcidiens, *Blastophaga psenes* (L.) et *Philotrypesis caricae* (L.) du figuier (*Ficus carica* L.). *Annales Sciences Naturelles Zoologie*, 20: 197–260.
- Miles PW, 1999. Aphid saliva. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 74(1): 41–85.
- Moreau SJM, Guillot S, 2005. Advances and prospects on biosynthesis, structures and functions of venom proteins from parasitic wasps. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 35(11): 1209–1223.
- Yadav P, Borges RM, 2018. Host-parasitoid development and survival strategies in a non-pollinating fig wasp community. *Acta Oecologica*, 90: 60–68.
- Yan Y, Liu WX, Wan FH, 2008. Roles of salivary components in piercing-sucking insect-plant interactions. *Acta Entomologica Sinica*, 51(1): 537–544. [严盈, 刘万学, 万方浩, 2008. 唾液成分在刺吸式昆虫与植物关系中的作用. 昆虫学报, 51(1): 537–544.]
- Yang S, Chen YL, Wu WS, Wang AF, Chen XJ, Bao TT, Ye JF, Song TY, Wu YL, Chou LS, Tzeng HY, 2017. Behavioral responses of *Wiebesia pumilae* to the female phase fig volatiles of *Ficus pumila* L. var. *pumila* and *Ficus pumila* L. var. *awkeotsang*. *Acta Ecologica Sinica*, 37(21): 7161–7169. [杨升, 陈友铃, 吴文珊, 陈晓娟, 包甜甜, 叶洁芬, 宋天宇, 吴怡祯, 周莲香, 曾喜育, 2017. 薜荔榕小蜂对薜荔和爱玉子雌花期榕果挥发物的行为反应. 生态学报, 37(21): 6161–7169.]