

# 菜蛾盘绒茧蜂对寄主小菜蛾幼虫营养的调节和利用

汪海燕, 余虹, 万志伟, 徐鹏, 陈学新\*

(浙江大学昆虫科学研究所 杭州 310029)

**摘要:** 寄主小菜蛾 *Plutella xylostella* 被内寄生蜂菜蛾盘绒茧蜂 *Cotesia plutellae* 寄生后, 其取食、发育及营养代谢在各种寄生因子的作用下伴随幼蜂的发育而发生很大的变化, 畸形细胞作为调节因子之一也发挥了重要的作用。本实验通过比较被寄生和未被寄生小菜蛾血淋巴蛋白浓度以及两种血淋巴对菜蛾盘绒茧蜂幼蜂进行体外培养的培养液的蛋白浓度, 发现被寄生小菜蛾血淋巴比未被寄生小菜蛾血淋巴的蛋白浓度略低但差异不显著, 而未被寄生小菜蛾血淋巴幼蜂培养液的蛋白浓度显著低于被寄生小菜蛾血淋巴幼蜂培养液的蛋白浓度, 证明畸形细胞的蛋白质分泌功能。被寄生后期, 小菜蛾体重明显大于未被寄生的小菜蛾体重, 而脂肪体重量相比正好相反; 通过显微染色观察, 在小菜蛾念珠状脂肪体表面粘附有畸形细胞, 对脂肪体进行分解破坏而使其成颗粒状; 蛋白含量和脂滴浓度测定也表明, 脂肪体的可溶性蛋白含量和脂滴浓度也迅速降低, 同比低于未被寄生小菜蛾。而与此同时, 幼蜂正处在快速生长阶段, 中肠酯酶的活性逐步上升, 幼蜂得以快速消化吸收小菜蛾体内的营养直到完成幼虫发育, 整个幼蜂的脂滴浓度也达到了最大值。因此寄生后期, 推测在畸形细胞的协助下, 幼蜂吸收了寄主小菜蛾体内的营养为自身生长发育所用。

**关键词:** 菜蛾盘绒茧蜂; 小菜蛾; 血淋巴; 脂肪体; 中肠; 畸形细胞; 蛋白; 脂滴; 酯酶活性

**中图分类号:** Q965 **文献标识码:** A **文章编号:** 0454-6296(2006)04-0574-08

## Regulation and utilization of the host (*Plutella xylostella*) nutrients by the endoparasitoid *Cotesia plutellae*

WANG Hai-Yan, YU Hong, WAN Zhi-Wei, XU Peng, CHEN Xue-Xin\* (Institute of Insect Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

**Abstract:** Parasitized by the endoparasitoid *Cotesia plutellae* (Hymenoptera: Braconidae), the feeding, development and nutrition metabolism of the host *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) were changed dramatically as the immature parasitoid developed inside. These changes were brought about by the impact of various parasitoid-associated factors. Teratocyte as one factor plays an important role. By comparing the changes of proteins in parasitized host and un-parasitized host haemolymphs and the culture mediums of 2nd instar parasitoid larvae using these two kinds of haemolymph *in vitro*, we found that the protein concentration in the hemolymph of the parasitized host was only slightly (not significantly) lower than that of the un-parasitized host, but that of the culture medium using unparasitized host hemolymph was significantly lower than that of parasitized host, suggesting that the teratocytes have the ability to secrete proteins. The body weight of parasitized host was greater than that of un-parasitized host while the reverse was true for the weight of fat body in the late stage of parasitization. Microscopic observation revealed that the moniliform fat body was broken into granules, which was induced by teratocytes attached the fat body tissue; correspondingly, the soluble protein and lipid concentrations of fat body decreased rapidly, much lower compared to those of un-parasitized host. At the same time parasitoid larva grew rapidly, its midgut became mature and absorbed a large amount of the host nutrients, the esterase activity in the midgut of parasitoid larvae increased accordingly and the amount of total lipid in the parasitoid larva increased up to its highest level. In conclusion, in the late

基金项目: 国家自然科学基金项目(30370959); 教育部“新世纪优秀人才支持计划”(NCE1-04-0521)

作者简介: 汪海燕, 女, 1979年8月生, 安徽宁国人, 硕士研究生, 研究方向为昆虫生理学与害虫生物防治, E-mail: why1001@126.com

\* 通讯作者 Author for correspondence: E-mail: xxchen@zju.edu.cn

收稿日期 Received: 2005-09-23; 接受日期 Accepted: 2006-01-25

stage of parasitization, the parasitoid larva, with the help of teratocytes, utilized up most of the host nutrients for its own development and growth.

**Key words:** *Cotesia plutellae*; *Plutella xylostella*; hemolymph; fat body; midgut; teratocyte; protein; lipid; esterase activity

内寄生蜂寄生寄主幼虫后,寄主幼虫仍然取食生长,幼蜂从寄主幼虫体内获得足够的营养却并不破坏能使寄主致死的重要器官(Godfray, 1994)。许多因子参与了这一过程,如随蜂卵孵化而释放到血淋巴中的寄生因子畸形细胞,它的功能之一就是营养功能,并能协助内寄生蜂的幼蜂取食寄主体内组织而满足自身的生长发育(Dahlman and Vinson, 1993; Quicke, 1997)。超微结构显示,畸形细胞内含大量的粗面型内质网,表明其具有很强的蛋白合成能力(Buron and Beckage, 1997)。Hotta等(2001)通过<sup>35</sup>S甲硫氨酸标记法,证实畸形细胞能合成并分泌多种蛋白质,Okuda和Kadono-Okuda(1995)发现瓢虫茧蜂*Dinocampus coccinellae*幼虫肠道内含物同畸形细胞蛋白粗提物的抗体有免疫反应,这一结果进一步证实了畸形细胞的营养作用;另外,瓢虫茧蜂的畸形细胞能合成分子量540 kD的多肽,主要亚基的氨基酸组成与昆虫的营养蛋白如卵黄原蛋白和贮藏蛋白极为相似,幼蜂的直接取食可满足发育中的幼蜂对营养的需求。除分泌蛋白酶外,畸形细胞还能分泌水解酶类,Dahlman和Vinson(1993)认为,对幼虫寄生蜂而言,畸形细胞可能分泌针对特异组织的酶,如畸形细胞可能通过分泌胶原酶,攻击寄主脂肪体胶原鞘,使脂肪体细胞有选择地向外释放营养以满足幼蜂发育的需求,而又不致于杀死寄主,从而使这种营养来源能够长久维持,真正使寄主和寄生蜂的发育在生理上达到协调。Nakamatsu等(2002)以充足的证据证实了粘虫绒茧蜂*Cotesia kariyai*畸形细胞确能分泌大量的胶原酶,对紧贴脂肪体的胶原鞘有区域性分解作用,消化脂肪体基质,产生大量脂类和游离的单个细胞,2龄幼蜂得以就近取食寄主脂肪体。那么当脂肪体被如此消耗的时候,血淋巴的营养物又是如何变化的呢?目前关于寄生蜂幼虫消耗的营养物与血淋巴营养物以及脂肪体三者之间的关系研究报道的还很少。Sal(1966)认为幼蜂通过直肠来吸收寄主营养,Edson和Vinson(1977)则认为红足侧沟茧蜂*Microplitis croceipes*是用肛门囊泡进行吸收的。Cacciaa和Leonardia(2005)发现无网蚜茧蜂*Aphidius ervi*幼蜂可以通过体表和中肠吸收寄主血淋巴中的营养物。Kaeslina等(2005)证实甲腹

茧蜂*Chelonus inanitus*寄生粘虫*Spodoptera littoralis*后期,引起寄主血淋巴贮藏蛋白降低,与未被寄生寄主达到显著差异。

菜蛾盘绒茧蜂*Cotesia plutellae*是小菜蛾*Plutella xylostella*重要的内寄生蜂,目前已对这一寄生体系中的一些寄生因子如畸形细胞和PDV做过一些研究(白素芬等,2002,2003a,2003b,2005a,2005b,2005c)。白素芬等(2005b)在对畸形细胞和脂肪体外共培养时,发现脂肪体结构变得松散。脂肪体是负责贮存碳水化合物、蛋白及脂类的器官,脂肪体结构的破坏使得其新陈代谢发生改变,体内碳水化合物含量发生变化(Keeley, 1985)。我们主要研究了菜蛾盘绒茧蜂寄生小菜蛾后,小菜蛾的营养代谢变化以及畸形细胞对幼蜂生长发育的协同作用。例如,被寄生后小菜蛾体重及脂肪体重量变化、血淋巴和脂肪体可溶性蛋白浓度变化等,以及血淋巴、脂肪体及幼蜂三者总脂滴浓度变化关系;另外还观察了幼蜂的发育情况如中肠形态与幼蜂的营养关系、中肠酯酶活性以及随幼蜂日龄的增长其取食消化能力的变化情况。

## 1 材料和方法

### 1.1 昆虫的饲养

小菜蛾幼虫饲喂嫩甘蓝叶片。菜蛾盘绒茧蜂采自杭州郊区菜田。收集交配后的菜蛾盘绒茧蜂于指形管(8 cm × 8 cm)中,接入2龄末小菜蛾幼虫1头,一次寄生行为发生后,换以未接触过蜂的小菜蛾幼虫。将被寄生后的小菜蛾幼虫接入插有甘蓝叶片的口径8 cm、长13 cm、顶部开有纱网封闭圆孔的塑料瓶内。供试昆虫在25 ± 1℃、RH 60% ~ 80%、光周期14L:10D的条件下饲养。

### 1.2 小菜蛾血淋巴中总脂滴浓度的测定

脂滴的浓度用比色法测定(Nakamatsu and Tanaka, 2004)。在PTU-PBS(8% PTU晶体溶于鳞翅目生理盐水PBS溶液)中解剖被寄生后第3、4、5、6、7天及同期未被寄生第3、3.5、4、4.5、5天的小菜蛾幼虫,每次20头,取血淋巴,每头虫收集1 μL于塑料离心管中,加入200 μL氯仿进行抽提,取50 μL样

品放入 0.5 mL 浓硫酸中,在沸水中加热 10 min,冷却到室温。取 200  $\mu\text{L}$  样品加入到磷酸-香兰素溶液中(13 mmol/L 香兰素溶于 14 mol/L 磷酸),立即混匀在室温下放置 30 min,在 547 nm 下测光学浓度。胆固醇作标准曲线(2.5 mg/mL 甲醇),浓度范围:0~50  $\mu\text{g/mL}$  样品和标准物均设 5 个重复。

### 1.3 小菜蛾血淋巴及幼蜂培养液蛋白浓度的比较

分别从被寄生后第 5 天和 4 龄未被寄生的小菜蛾幼虫提取血淋巴各 10  $\mu\text{L}$ ,用 PBS 稀释到 50  $\mu\text{L}$ ;另取上述两种血淋巴(被寄生的寄主有畸形细胞,而未被寄生的寄主则无畸形细胞)各 20  $\mu\text{L}$ ,用 TC-100 细胞培养液稀释到 100  $\mu\text{L}$  用作幼蜂培养,各取 1 头 2 龄幼蜂在 25 $^{\circ}\text{C}$ 、无菌条件下置于 96 孔细胞培养板中培养 24 h (Hoy and Dahlman, 2002),提取培养液 50  $\mu\text{L}$ 。以上 4 种提取液在 25 $^{\circ}\text{C}$ , 12 000  $\times$  g 离心 5 min,上清液待用。使用蛋白分析试剂(Bio-Rad Protein Assay Reagent),酶标仪(Model 550, Bio-Rad Co)在 595 nm 下测定吸光度值,牛血清蛋白作标准曲线(Bradford, 1976)。

### 1.4 小菜蛾中肠酯酶活性的测定

提取 4 龄末未被寄生的小菜蛾、被寄生后第 3、4、5、6、7 天的小菜蛾的中肠。被寄生后第 3 天开始,在冰浴中每天收集 20 头(雌雄各 10 头)小菜蛾幼虫的中肠,去除内容物,在 PTU 中清洗 2 遍,置于 200  $\mu\text{L}$  PTU-PBS 中用玻璃棒研磨至无明显组织,每一样品在 4 $^{\circ}\text{C}$  下,12 000  $\times$  g 离心 10 min,以去掉细胞碎片,上清液用缓冲液稀释 100 倍,即为酶液。所有操作均在冰浴中进行(Nakamatsu *et al.*, 2002)。

在试管中加入 5 mL 底物溶液( $3 \times 10^{-4}$  mol/L  $\alpha$ -醋酸萘酯),置 25 $^{\circ}\text{C}$  平衡 5 min,加入 1 mL 酶液,立刻摇匀计时,置 25 $^{\circ}\text{C}$  下温育 30 min,立即加入 1 mL 显色剂(1% 固蓝盐 B:5% 十二烷基硫酸钠 = 2:5),中止反应并显色,30 min 后待出现稳定蓝绿色,在分光光度计上测定 OD<sub>600</sub> 值。用  $\alpha$ -萘酚作标准曲线(陈长琨等, 1993)。

### 1.5 小菜蛾脂肪体重量、可溶性蛋白量和总脂滴浓度的测定

**1.5.1 脂肪体重量的测定:**取被寄生后第 3、4、5、6、7 天的小菜蛾幼虫 10 头(雌雄各 5 头)称重,然后在 70% 无水酒精中消毒后置于鳞翅目生理盐水(PBS)中,用滤纸吸干,在 25 倍解剖镜下,切开小菜蛾幼虫,移开中肠、精巢等主要器官,用镊子将脂肪体刮到已于 56 $^{\circ}\text{C}$  干燥恒重的滤纸上,细碎的脂肪体也要收集到滤纸上(Nakamatsu and Tanaka, 2004),在

56 $^{\circ}\text{C}$  干燥 10 天,直到重量稳定在 0.005 g,脂肪体重量即总重减去滤纸重量。取同期未被寄生的第 3、3.5、4、4.5、5 天的小菜蛾幼虫 10 头(雌雄各 5 头),分别测幼虫重量及脂肪体重量作对照。

**1.5.2 脂肪体可溶性蛋白量的测定:**取被寄生后第 3、4、5、6、7 天小菜蛾幼虫 20 头(雌雄各 10 头)提取脂肪体,溶解于 200  $\mu\text{L}$  氯仿中,搅拌均匀浆至无明显固体物,取上清液待用。使用蛋白分析试剂,酶标仪在 595 nm 下测定吸光度值,牛血清蛋白作标准曲线(Bradford, 1976)。

**1.5.3 脂肪体总脂滴浓度的测定:**在 PBS 中解剖被寄生后第 3、4、5、6、7 天的小菜蛾幼虫,每次 20 头,取脂肪体,加入 200  $\mu\text{L}$  氯仿,搅拌均匀浆至无明显固体物,取上清液(Nakamatsu *et al.*, 2002),测脂滴的浓度,方法同上。

### 1.6 菜蛾盘绒茧蜂幼蜂总脂滴量和酯酶活性的测定

**1.6.1 幼蜂总脂滴量的测定:**被寄生后第 3~7 天,在 PBS 中解剖小菜蛾,每天取 20 头幼蜂,加入 200  $\mu\text{L}$  氯仿,搅拌均匀浆至无明显固体物,提取上清液待用(Nakamatsu *et al.*, 2002)。脂滴浓度的测定方法同上。

**1.6.2 幼蜂酯酶活性的测定:**用整个幼蜂代替对幼蜂中肠酯酶活性的测定。幼蜂取法同 1.6.1 节,在 PBS 中清洗 2 遍,置于 200  $\mu\text{L}$  PTU-PBS 中用玻璃棒研磨至无明显组织,每一样品在 4 $^{\circ}\text{C}$  下,12 000  $\times$  g 离心 15 min,以去掉细胞碎片,上清液用缓冲液稀释 100 倍,即为酶液(Nakamatsu *et al.*, 2002)。所有操作均在冰浴中进行。测定方法同 1.4 节。

### 1.7 小菜蛾脂肪体的染色观察

分别取 4 龄未被寄生及被寄生后第 4、6 天的小菜蛾幼虫,在 Leica MZ APO 型解剖镜下解剖取出完整或破碎的脂肪体,用 0.1% 苏丹 III 溶液染色(Nakamatsu *et al.*, 2002),在 Leica DM IRB 倒置显微镜下观察,并用 Leica DFC300FX 照相系统拍照。

## 2 结果和分析

### 2.1 小菜蛾幼虫血淋巴和脂肪体、菜蛾盘绒茧蜂幼蜂的脂滴浓度的变化

被寄生后第 3~7 天的小菜蛾比未被寄生的小菜蛾化蛹前所测血淋巴脂滴浓度平均值高,尤其是后期,此时幼蜂已经长到 2、3 龄,畸形细胞分解脂肪体鞘使脂肪体脂滴颗粒释放到血淋巴中供幼蜂取

食,所以使血淋巴脂滴浓度升高。在第 5 天时达到最大值  $1.311 \mu\text{g/mL}$  (图 1)。

被寄生后第 3~7 天的小菜蛾幼虫脂肪体脂滴浓度的变化呈一个单峰形式,被寄生后第 3 天最低,只有  $0.798 \mu\text{g/mL}$ ,逐渐升高,到第 5 天达到最大值  $20.143 \mu\text{g/mL}$ ,此过程也是小菜蛾发育的时期,随寄

主体积的发育增长,其脂肪体脂滴浓度也有一个增长过程,而后又开始下降,到第 7 天脂滴浓度为  $2.963 \mu\text{g/mL}$ ,此时是幼蜂快速取食阶段(图 1)。

寄生后第 3~5 天幼蜂脂滴浓度缓慢上升,从  $1.937 \mu\text{g/mL}$  到  $3.732 \mu\text{g/mL}$ ,第 5 天后,幼蜂脂滴浓度急剧上升,第 7 天达到  $12.564 \mu\text{g/mL}$  (图 1)。

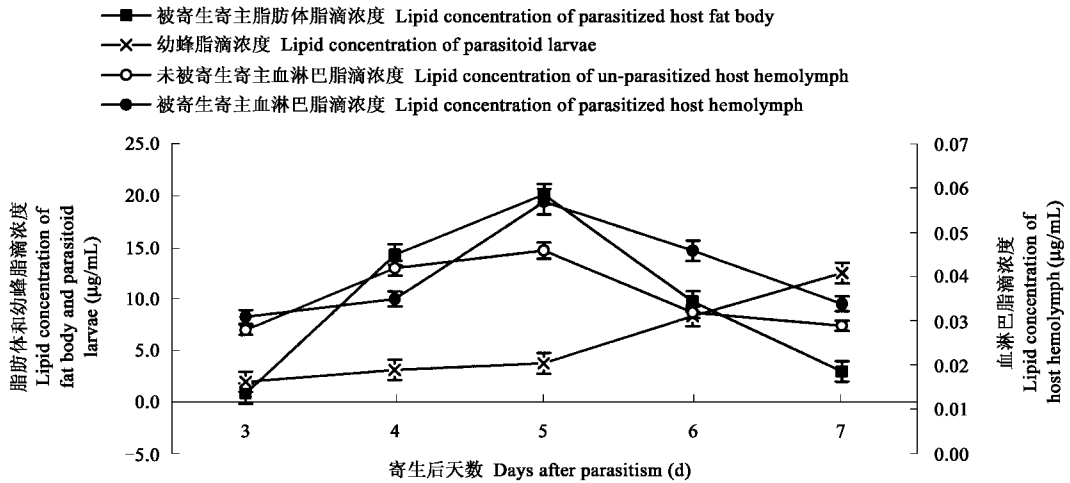


图 1 被寄生和未被寄生小菜蛾血淋巴、脂肪体及幼蜂脂滴浓度变化

Fig. 1 Changes of lipid concentration in parasitized and un-parasitized host hemolymphs, parasitized host fat body and parasitoid larvae

## 2.2 小菜蛾血淋巴及幼蜂培养液蛋白浓度的比较和小菜蛾脂肪体蛋白浓度的变化

被寄生小菜蛾幼虫血淋巴蛋白浓度( $0.593 \pm 0.022 \text{ mg/mL}$ )比未被寄生的( $0.599 \pm 0.04 \text{ mg/mL}$ )略低但差异不显著,而未被寄生的小菜蛾幼虫血淋巴(内无畸形细胞)培养液在培养幼蜂 24 h 后其蛋白浓度( $0.452 \pm 0.015 \text{ mg/mL}$ )很低,与被寄生的小菜蛾幼虫血淋巴(含畸形细胞)培养液培养幼蜂后蛋白浓度( $0.491 \pm 0.034 \text{ mg/mL}$ )差异达到显著水平,说明其中畸形细胞具有分泌蛋白质的作用,也就是说畸形细胞对幼蜂具有营养作用。

被寄生后第 3~7 天小菜蛾幼虫脂肪体可溶性蛋白含量变化呈一个单峰曲线的形式。从第 3 天开始上升,第 5 天达最大值,而后又下降,第 7 天达最小值,这是因为我们选择 2 龄寄主幼虫寄生,被寄生后寄主仍然继续发育,脂肪体也逐步发育成熟,其蛋白含量也逐渐增加,到寄生后第 5 天,幼蜂开始取食,脂肪体遭到破坏而降解呈颗粒状释放到血淋巴中供幼蜂取食,所以其蛋白含量又开始下降。由表 1 可以看出各天蛋白含量变化差异都达到极显著水平。

## 2.3 小菜蛾幼虫中肠和幼蜂酯酶活性的变化

被寄生后小菜蛾幼虫中肠酯酶的活性从第 3 天

开始上升,在第 4 天达最大值  $3.84 \mu\text{mol/mL}$ ,此时寄主发育完成,开始进入漫游期,其中肠酯酶的活性逐渐下降,第 7 天达到最小值  $1.92 \mu\text{mol/mL}$  (图 2)。

表 1 被寄生后小菜蛾逐天脂肪体可溶性蛋白含量的变化( $\mu\text{g/mL}$ )

Table 1 Daily change of the soluble protein concentration in fat body of the host *Plutella xylostella* being parasitized ( $\mu\text{g/mL}$ )

寄生后天数 Days after parasitism	脂肪体蛋白含量 Protein concentration in fat body
3	$11.163 \pm 0.156 \text{ dC}$
4	$17.270 \pm 0.922 \text{ bB}$
5	$19.877 \pm 0.637 \text{ aA}$
6	$12.457 \pm 0.287 \text{ cC}$
7	$8.157 \pm 0.160 \text{ eD}$

注:表中数据为平均值 $\pm$ 标准差,同列数据比较,具有相同小写英文字母或大写英文字母的平均数之间差异未达显著( $P > 0.05$ )或极显著( $P > 0.01$ )水平(Duncan 新复极差法)。

Note: Data are mean  $\pm$  SD, and those in a column followed by the same small letter or capital letter are not significantly different at  $P > 0.05$  or  $P > 0.01$  level (Duncan's multiple range test).

幼蜂酯酶的活性第 3 天最小( $0.069 \mu\text{mol/mL}$ ),从第 3 天到第 5 天呈缓慢上升的趋势,第 5 天到第 6 天,幼蜂长成 3 龄后,幼蜂具有取食寄主脂肪体的能力,其酯酶活性跳跃式升高,到第 7 天达最大值  $3.909 \mu\text{mol/mL}$  (图 2)。

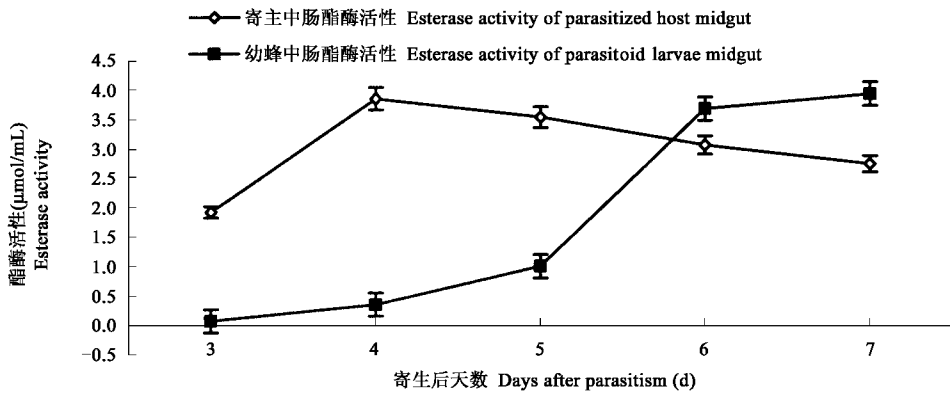


图2 被寄生后寄主小菜蛾中肠及幼蜂酯酶活性变化

Fig. 2 Changes of esterase activity in parasitized host midgut and parasitoid larvae

## 2.4 小菜蛾体重及其脂肪体重量的变化

从图3可以看出,被寄生前期小菜蛾体重较未被寄生的体重轻,到未被寄生小菜蛾化蛹时,其体重减小,而被寄生小菜蛾体重持续上升,直到变成超重虫体;被寄生小菜蛾脂肪体重量从第3天开始逐渐上升,到第6天达到最大值,此时小菜蛾脂肪体发育

成熟,而后被畸形细胞破坏又开始下降,未被寄生小菜蛾脂肪体重量从第3天开始上升,到第4.5天时进入预蛹期,部分已化蛹,此时体重最轻,第5天已全部化蛹,体重又回升,并且同龄期的未被寄生小菜蛾脂肪体重量比被寄生小菜蛾脂肪体重量大。

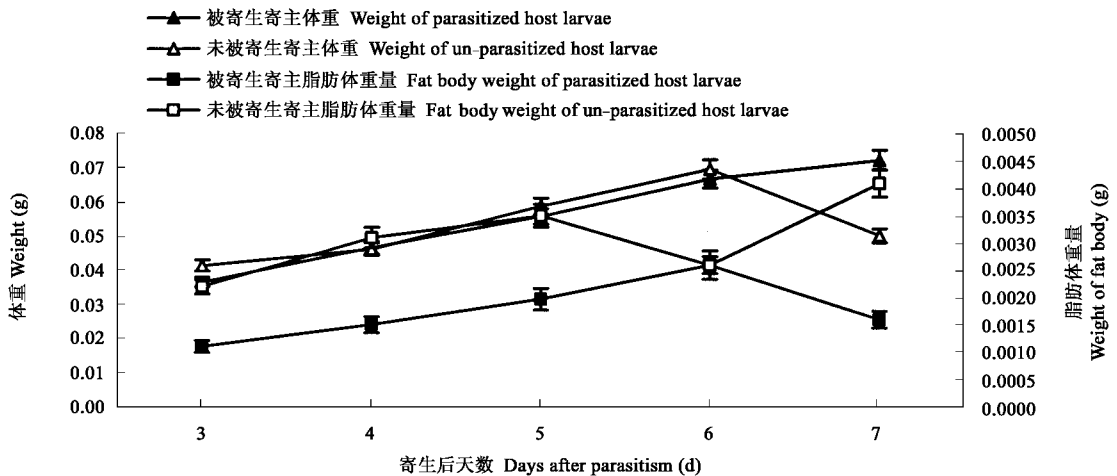


图3 被寄生、未被寄生小菜蛾体重及脂肪体重量变化

Fig. 3 Changes in larval body weight and fat body weight of the parasitized and un-parasitized hosts

## 2.5 不同龄期幼蜂及其中肠的观察

取被寄生后第2、3、4、6天的小菜蛾幼虫,解剖取出不同龄期的幼蜂,在倒置相差显微镜下观察并拍照。1龄初幼蜂为尾鄂型幼虫:体表无色透明状,内含鲜黄色卵黄,有分节现象,尾部针状,前半部常常附有畸形细胞(图4:A);1龄末期幼蜂头宽和体宽相同,尾部出现扁圆形囊状物,通体白色,图4(B)为正在蜕皮的1龄末幼蜂;2龄幼蜂为尾囊型幼虫,虫体无色透明,体躯分节明显,逐渐发育至淡黄绿色(图4:C);3龄幼蜂的头部变尖,消化道由无色透明逐渐变为绿色,可清楚看见绿色中肠,尾囊逐渐缩

小(图4:D)。

## 2.6 小菜蛾脂肪体的形态

未被寄生小菜蛾体内的脂肪体完整,呈块状,用苏丹Ⅲ染色变成鲜艳的红色,周围漂浮着寄主体内的油滴(图5:A);被寄生中期小菜蛾体内的畸形细胞体积增大,在开始分解寄主脂肪体前附着在完整的脂肪体表面(图5:B),即将对脂肪体进行区域性分解;被寄生后期,畸形细胞对脂肪体结构进行破坏,脂肪体变成颗粒状,经苏丹Ⅲ染色后变成红色(图5:C)。

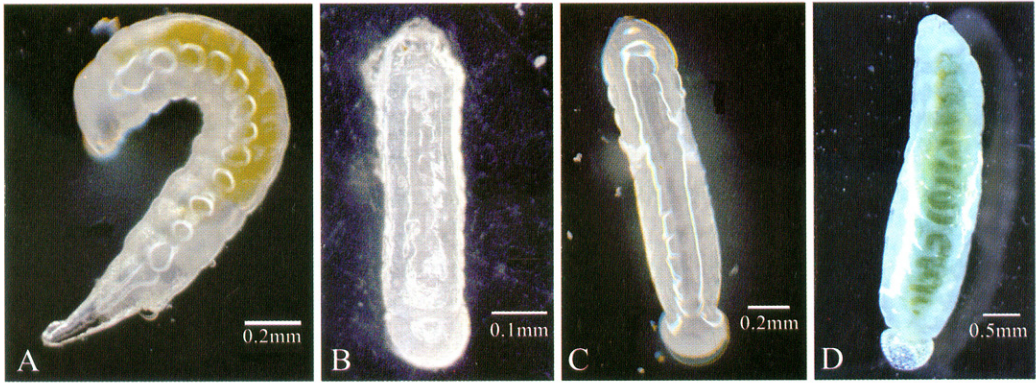


图 4 菜蛾盘绒茧蜂幼蜂

Fig. 4 Larva of *Cotesia plutellae*

A: 1 龄初期幼蜂 Early stage of first instar larva; B: 1 龄末期幼蜂 Last stage of first instar larva; C: 2 龄幼蜂 Second instar larva; D: 3 龄末幼蜂 Last stage of third instar larva.

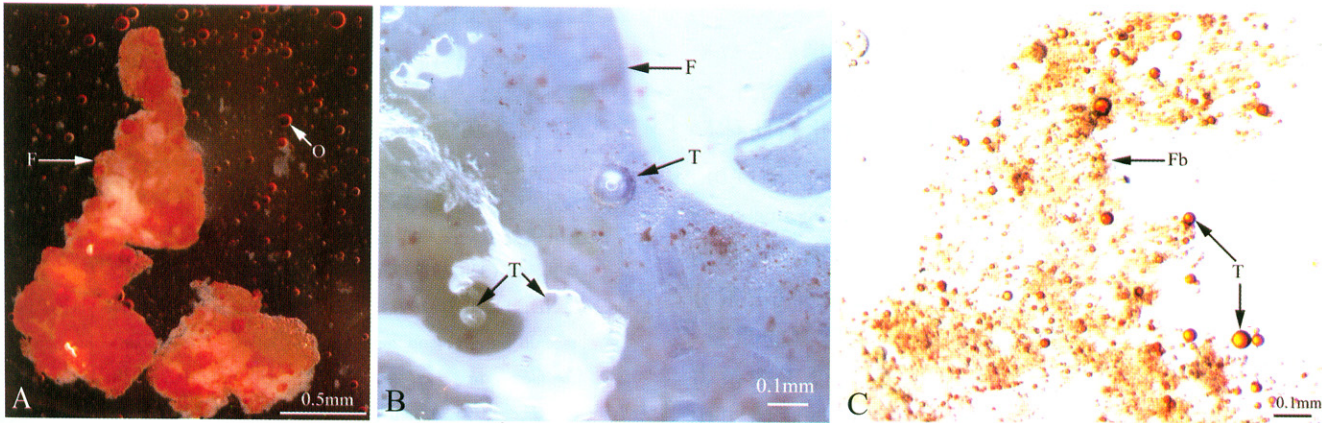


图 5 小菜蛾脂肪体

Fig. 5 Fat body of *Plutella xylostella*

A: 苏丹 III 染色的完整脂肪体 Intact fat body dyed with Sudan III; B: 脂肪体上的畸形细胞 Teratocytes on the fat body; C: 苏丹 III 染色的颗粒状脂肪体 Cracked fat body dyed with Sudan III. T: 畸形细胞 Teratocyte; F: 完整脂肪体 Intact fat body; O: 寄主体内漂浮的油滴 Oil in the host body; Fb: 颗粒状的脂肪体 Cracked fat body.

### 3 讨论

菜蛾盘绒茧蜂寄生小菜蛾后,当幼蜂刚刚发育时,内含卵黄,后卵黄为幼蜂生长所吸收,1 龄末 2 龄初幼蜂通体白色透明状,几乎看不见内脏组织,尚不能直接取食,那么它是怎样获取生长发育所需的营养呢? 我们推测幼蜂孵化开始后从小菜蛾血淋巴中获得营养,因为不管是通过何种方式来吸收,寄主血淋巴中的内容物确实减少了。这可能是由二个途径造成的:一方面,寄主血淋巴是幼蜂的直接营养来源,这与其他一些研究结果类似(Salt, 1966; Edson and Vinson, 1977; Cacciaa *et al.*, 2005);另一方面,PDV、畸形细胞等寄生因子影响了血淋巴的合成和转化,如在索诺齿唇姬蜂 *Campoletis sonorensis*-

烟芽夜蛾 *Heliothis virescens* 寄生体系中,PDV 抑制寄主贮藏蛋白的转化(Shelby and Webb, 1997),而红足侧沟茧蜂-烟芽夜蛾体系中,畸形细胞或其分泌物能阻碍血淋巴蛋白的合成(Dahlman *et al.*, 2003)。

本实验中被寄生小菜蛾血淋巴蛋白含量比未被寄生小菜蛾血淋巴蛋白含量少,而用两种血淋巴培养幼蜂,24 h 后未被寄生小菜蛾血淋巴培养液蛋白含量比被寄生小菜蛾血淋巴培养液蛋白含量低,且达到显著差异,这是因为正常被寄生小菜蛾血淋巴中的畸形细胞在保护幼蜂免受寄主免疫系统侵害的同时,还能分泌蛋白质,为幼蜂生长发育提供营养物质(Dahlman *et al.*, 2003);另外,未被寄生小菜蛾血淋巴脂滴浓度先随虫体生长而上升,幼虫发育停滞到预蛹期这段时间血淋巴脂滴浓度又逐渐下降,但整个变化幅度不如被寄生的血淋巴脂滴浓度高,小菜

蛾幼虫血淋巴脂滴浓度变化趋势与未被寄生的一样,在幼蜂长到 2 龄开始大量取食后,血淋巴脂滴浓度迅速降低,但因为被寄生后期,小菜蛾脂肪体遭破坏而向血淋巴大量释放内容物,使得被寄生小菜蛾幼虫血淋巴脂滴浓度比未被寄生小菜蛾幼虫血淋巴脂滴浓度高。

但是,血淋巴内容物的变化不足以解释 2 龄幼蜂的快速生长,我们从图 4 中可以看出明显的中肠,当幼蜂发育到 3 龄即从寄生后第 6 天开始,幼蜂绿色的中肠已经清晰可见,幼蜂中肠酯酶的活性也是逐天上升,2 龄后更是跳跃式增加,说明其已具备自行取食的能力,此时幼蜂需要更多的食物来满足其生长发育的需要。随幼蜂的生长,寄主小菜蛾脂肪体也发生很大变化,被寄生后第 4 天(2 龄幼蜂初期)脂肪体慢慢遭到粘附在其上的畸形细胞的分解破坏,因为畸形细胞除了分泌蛋白质等营养物外,还可以分泌水解酶类,即畸形细胞分泌消化脂肪体鞘的胶原蛋白酶使脂肪体鞘质成孔,脂肪体开始降解,降解的程度跟畸形细胞的数量有关(Nakamatsu *et al.*, 2001a),从寄生后第 5 天开始,已无完整的脂肪体组织,脂肪体呈颗粒状散落在寄主血腔中(白素芬等, 2005a),并且颗粒越来越细,寄主脂肪体的重量、蛋白含量和总脂滴浓度迅速降低,同比低于未被寄生的寄主;2 龄幼蜂自己分泌消化酶对脂肪体组织进行消化吸收,幼蜂酯酶的活性反应其取食的能力(Nakamatsu *et al.*, 2002),相应地,幼蜂的总脂滴浓度随其体积的增大而逐渐增大,取食消化能力也不断增强,最终发育成熟的幼蜂咬破寄主体壁,在寄主体外结茧。

对整个寄生体系来说,幼蜂将寄主的内容物作为营养来源为自身生长发育所用,在完成自身生长发育的同时,完成害虫天敌的使命。

## 参 考 文 献 (References)

- Bai SF, Chen XX, Fu WJ, Cheng JA, He JH, 2002. Development and ultrastructure of *Cotesia plutellae* teratocytes. *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Science)*, 28(6): 635–645. [白素芬, 陈学新, 符文俊, 程家安, 何俊华, 2002. 菜蛾盘绒茧蜂畸形细胞发育及其超微形态结构. 浙江大学学报(农业与生物技术版), 28(6): 635–645]
- Bai SF, Chen XX, Fu WJ, Cheng JA, He JH, 2003a. Characterization of polydnavirus of *Cotesia plutellae* and its physiological effect on host, *Plutella xylostella*. *Acta Entomol. Sin.*, 46(4): 401–408. [白素芬, 陈学新, 符文俊, 程家安, 何俊华, 2003a. 菜蛾盘绒茧蜂多分 DNA 病毒(PDV)的特性及其对小菜蛾幼虫的生理效应. 昆虫学报, 46(4): 401–408]
- Bai SF, Chen XX, Fu WJ, Ye GY, Cheng JA, He JH, 2003b. Recent research progress on parasitoid teratocytes. *Chinese Journal of Biological Control*, 19(1): 35–39. [白素芬, 陈学新, 符文俊, 叶恭银, 程家安, 何俊华, 2003b. 畸形细胞对寄生蜂及其寄主的生理作用. 中国生物防治, 19(1): 35–39]
- Bai SF, Chen XX, Cheng JA, Fu WJ, He JH, 2005a. Effects of wasp-associated factors of *Cotesia plutellae* on growth and development of *Plutella xylostella* larvae. *Acta Phytophylacica Sinica*, 32(3): 235–240. [白素芬, 陈学新, 程家安, 符文俊, 何俊华, 2005a. 菜蛾盘绒茧蜂主要寄生因子对寄主小菜蛾生长发育的调控. 植物保护学报, 32(3): 235–240]
- Bai SF, Chen XX, Fu WJ, Cheng JA, He JH, 2005b. Effects of parasitism factors of the parasitoid *Cotesia plutellae* on changes of fat body structure of the host *Plutella xylostella* larvae. *Acta Entomol. Sin.*, 48(2): 166–171. [白素芬, 陈学新, 符文俊, 程家安, 何俊华, 2005b. 菜蛾盘绒茧蜂主要寄生因子导致的寄主小菜蛾幼虫脂肪体结构的变化. 昆虫学报, 48(2): 166–171]
- Bai SF, Chen XX, Fu WJ, Cheng JA, He JH, 2005c. Effects of superparasitism, host age at the time of oviposition and host starvation after parasitism on the growth of *Cotesia plutellae* larvae and their teratocytes. *Acta Entomol. Sin.*, 48(3): 331–336. [白素芬, 陈学新, 符文俊, 程家安, 何俊华, 2005c. 寄主龄期、过寄生和寄主饥饿处理对菜蛾盘绒茧蜂幼蜂及畸形细胞发育的影响. 昆虫学报, 48(3): 331–336]
- Beckage NE, Buron I, 1997. Developmental changes in teratocytes of the braconid wasp *Cotesia congregata* in larvae of the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. *J. Insect Physiol.*, 43(10): 915–930.
- 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: 248.
- Caccia S, Leonardia MG, 2005. Nutrient absorption by *Aphidius ervi* larvae. *J. Insect Physiol.*, 51: 1183–1192.
- Chen CK, Han ZJ, Wang YC, 1993. Methods of Insect Physiology and Biochemistry. Beijing: China Agriculture Press. 26–28. [陈长琨, 韩召军, 王荫长, 1993. 昆虫生理生化实验. 北京: 农业出版社. 26–28]
- Dahlman DL, Vinson SB, 1993. Teratocytes developmental and biochemical characteristics. In: Beckage NE, Thompson SN, Federici BA eds. Parasites and Pathogens of Insects. Vol. 1. New York: Academic Press. 145–165.
- Dahlman DL, Rana RL, Schepers EJ, Schepers T, Diluna FA, Webb BA, 2003. A teratocyte gene from a parasitic wasp that is associated with inhibition of insect growth and development inhibits host protein synthesis. *Insect Mol. Biol.*, 12: 527–534.
- Edson KM, Vinson SB, 1977. Nutritional absorption by the anal vesicle of the braconid wasp, *Microplitis croceipes*. *J. Insect Physiol.*, 23: 5–8.
- Godfray HCJ 1994. The immature parasitoid. In: Godfray HCJ ed. Parasitoids: Behavioral and Evolutionary Ecology. New Jersey: Princeton University Press. 225–259.
- Hotta M, Okuda T, Tanaka T, 2001. *Cotesia kariyai* teratocytes: growth and development. *J. Insect Physiol.*, 47: 31–41.

- Hoy HL, Dahlman DL, 2002. Extended *in vitro* culture of *Microplitis croceipes* teratocytes and secretion of TSP14 protein. *J. Insect Physiol.*, 48 : 401 – 409.
- Kaesslin M, Pfister-Wilhelma R, Molinab D, Lanzrein B, 2005. Changes in the haemolymph proteome of *Spodoptera littoralis* induced by the parasitoid *Chelonus inanitus* or its polydnavirus and physiological implications. *J. Insect Physiol.*, 51 : 975 – 988.
- Keeley LL, 1985. Physiology and biochemistry of the fat body. In : Kerkut GA, Gilbert LI eds. *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, Vol. 3. Oxford : Pergamon Press. 211 – 248.
- Nakamatsu Y, Fujii S, Tanaka T, 2001a. Development of teratocytes associated with *Microctonus aethioides* Loan ( Hymenoptera : Braconidae ) in natural and novel host species. *J. Insect Physiol.*, 47 : 257 – 262.
- Nakamatsu Y, Gyotoku Y, Tanaka T, 2001b. The endoparasitoid *Cotesia kariyai* ( Ck ) regulates the growth and metabolic efficiency of *Pseudaletia separata* larvae by venom and Ck polydnavirus. *J. Insect Physiol.*, 47 : 573 – 584.
- Nakamatsu Y, Fujii S, Tanaka T, 2002. Larvae of an endoparasitoid, *Cotesia kariyai* ( Hymenoptera : Braconidea ), feed on the host fat body directly in the second stadium with the help of teratocytes. *J. Insect Physiol.*, 48 : 1 041 – 1 052.
- 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* ). *J. Insect Physiol.*, 50 : 135 – 141.
- Okuda T, Kadono-Okuda K, 1995. *Perilitus coccinellae* teratocyte polypeptide : evidence for production of a teratocyte-specific 540 kDa protein. *J. Insect Physiol.*, 41 : 819 – 825.
- Quicke DLJ, 1997. Physiological interactions of parasitic wasps and their hosts. In : Quicke DLJ ed. *Parasitic Wasps*. London : Chapman and Hall. 106 – 244.
- Salt G, 1966. Experimental studies in insect parasitism. XIV. The haemocytic reaction of a caterpillar to larvae of its habitual parasite. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 162 : 303 – 318.
- Shelby KS, Webb BA, 1997. Polydnavirus infection inhibits translation of specific growth-associated host proteins. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 27 : 263 – 270.

( 责任编辑 : 黄玲巧 )