

文章编号: 1001-7380(2015)03-0017-04

白蛾黑基啮小蜂寄主接受行为因子的探讨

郭加忠¹ 郭同斌^{2*} 颜学武³ 王虎诚² 杜伟²

(1. 高邮市京杭运河管理处, 江苏 高邮 225600; 2. 徐州市森林病虫害防治检疫站, 江苏 徐州 221009; 3. 湖南省林业科学研究院, 湖南 长沙 410004)

摘要: 白蛾黑基啮小蜂(*Tetrastichus nigricoxae* Yang) 是徐州地区杨小舟蛾(*Micromelalopha troglodyta*) 蛹期的1种重要天敌。研究证明, 白蛾黑基啮小蜂主要是通过嗅觉来识别寄主蛹的, 并且它能够辨别已寄生蛹和未寄生蛹, 避免了因重复寄生而造成子代小蜂不能完成世代发育。未寄生的杨小舟蛾蛹表提取物中含有大量羊毛甾醇(62.411%), 而寄生过的杨小舟蛾蛹表提取物中不存在该物质。高浓度的未寄生蛹表提取物能够引诱白蛾黑基啮小蜂, 而已寄生蛹表提取物对小蜂无引诱作用。2种提取物均不能提高白蛾黑基啮小蜂对杨小舟蛾的寄生率。

关键词: 白蛾黑基啮小蜂; 寄主接受; 蛹表提取物

中图分类号: Q968 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1001-7380.2015.03.004

Probe of host acceptance factor of *Tetrastichus nigricoxae* Yang

GUO Jia-zhong¹, GUO Tong-bin^{2*}, YAN Xue-wu³, WANG Hu-cheng², DU Wei²

(1. Gaoyou Administration of Grand Canal, Gaoyou 225600, China; 2. Forest Pest Management and Quarantine Station of Xuzhou, Xuzhou 221009, China; 3. Hunan Academy of Forestry, Changsha 410004, China)

Abstract: *Tetrastichus nigricoxae* Yang parasitizes mainly on the *Micromelalopha troglodyta* Graeser pupae in Xuzhou City. Our research showed that olfaction of the female chalcid played the major role in its host acceptance. And *T. nigricoxae* Yang could also identify the non-parasitized and parasitized pupae to avoid hyperparasitization. The shell extractive of the non-parasitized pupae that could attract the chalcid contained a large number of lanosterol (62.411%), which did not exist in the shell extractive of the parasitized pupae. Both of the extractives could not attract the chalcid to gain more hosts.

Key words: *Tetrastichus nigricoxae* Yang; Host acceptance; Pupal shell extractive

寄生蜂到底是怎样搜寻到寄主的? 关于这个问题有很多研究结果。有人认为, 寄生蜂是通过寄主蛹腹部的摆动节律来识别寄主的^[1-2]; 而另一些研究指出, 寄主的排泄物、蜕皮、蛹表挥发性物质都能吸引寄生蜂^[3-5]。白蛾黑基啮小蜂(*Tetrastichus nigricoxae* Yang) 属膜翅目(Hymenoptera) 姬小蜂科(Eulophidae) 啮小蜂属, 是1种群聚性的蛹内寄生蜂, 在徐州地区主要寄生于杨小舟蛾(*Micromelalopha troglodyta* Graeser) 蛹内, 林间自然寄生率为10%~20%^[6-7]。通过试验, 本文作者主要研究了

该寄生蜂视觉对寄主接受行为的影响、对已寄生寄主的识别能力以及寄主蛹表提取物对其寄生行为的影响等, 以期为该种寄生蜂的人工大量繁殖与利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 蜂种

白蛾黑基啮小蜂蜂种采自江苏徐州新沂沂河岸等地杨树林带内杨小舟蛾越冬蛹中, 将其带入实验室后, 以杨小舟蛾蛹进行室内饲养, 继代繁殖在温度

收稿日期: 2015-04-20; 修回日期: 2015-04-28

基金项目: 江苏省“333工程”科研项目(BRA2010027)

作者简介: 郭加忠(1966-), 男, 江苏高邮人, 大学专科毕业, 主要从事林业技术推广工作。

* 通信作者: 郭同斌(1967-), 男, 研究员级高级工程师, 博士。E-mail: gtb1101@163.com。

(24 ± 2) °C 相对湿度(75 ± 10) % ,光周期 L:D = 12 h:12 h 的人工气候箱(RXZ-500B 型,宁波江南仪器厂生产)中进行。试验中所用啮小蜂,除文中特别注明外,均为羽化后 2 d 经群体交尾的雌蜂。

1.2 杨小舟蛾

杨小舟蛾采用文献[8]的方法进行室内继代饲养繁殖。化蛹时收集新鲜的蛹备用,试验中所用的寄主蛹均为 1 d 龄蛹。

1.3 试验方法

1.3.1 视觉对白蛾黑基啮小蜂寄主接受行为的影响 分别用擦镜纸、保鲜膜、杨树叶 3 种不同材料密封杨小舟蛾蛹,四周用透明胶带纸贴紧。然后将所包蛹逐头贴在 1 cm×3 cm 纸条一端上,另一端加 1 滴 10% 蜂蜜水,供白蛾黑基啮小蜂取食。单管(直径 1 cm,长 7 cm)接蜂(1 蜂 1 蛹),寄生 24 h 后,置于温室中培养,观察子代蜂羽化,解剖和记录蛹内的残存蜂数。对照组使用正常蛹。每组试验观察 10 头雌蜂和蛹,重复 4 次。

1.3.2 白蛾黑基啮小蜂对已寄生寄主的识别能力

(1) 白蛾黑基啮小蜂在已寄生和未寄生蛹上产卵管插入时间调查。将 10 头杨小舟蛾蛹分别放在 10 个单管中,每管 1 头。然后每管引入 1 头群体喂养的 2 d 龄雌蜂。寄生 4 h 后,立即移去管内雌蜂,获得已寄生蛹。试验时,每头寄生蛹的管子中,逐头引入 1 头雌蜂,分别记录每头雌蜂在寄生蛹上产卵管插入和拔出时间。重复观察 10 头寄生蛹和 10 头雌蜂。另用 10 头未寄生的杨小舟蛾蛹作对照,按上述方法进行同样试验。试验重复 3 次。

(2) 白蛾黑基啮小蜂在已寄生和未寄生蛹中所产子代数比较。选用 20 头杨小舟蛾蛹,按蛹、雌蜂各 1 头的比例进行单管接蜂。寄生 4 h 后,立即将已寄生蛹取出、混合。然后将其中 10 头已寄生蛹(即寄生 1 次)分放入单管中,逐管编号放在温室中观察。而另 10 头已寄生蛹,重新放入 10 个管子中,每管再次引入 1 头新的雌蜂。寄生 2 h 后,即将管内雌蜂移去,亦放在人工气候箱中,观察其寄生(即寄生 2 次)情况,待每组寄生蜂羽化结束后,分别对每头蛹进行解剖,检查记录蛹内残存的蜂数。试验重复 3 次。

1.3.3 杨小舟蛾蛹表提取物的提取、分析及其对白蛾黑基啮小蜂寄生行为的影响

(1) 提取。将 200 头未寄生的杨小舟蛾蛹放入 500 mL 三氯甲烷溶液中,把容器口密封后置于冰箱

(5 °C 左右)中 2 d,然后取蛹过滤,并按不同试验要求对提取液进行浓缩。浓缩液置于冰箱中备用。同法提取已被白蛾黑基啮小蜂寄生 3 d 的杨小舟蛾蛹表挥发性物质备用。

(2) 成分初步分析。2 种提取物均采用气质联用仪 GC/MS(6890/5973N 型,美国安捷伦公司产)进行分析。色谱条件:6890 型气相色谱仪(美国安捷伦公司产),HP-5MS 弹性石英毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm),载气为高纯氦气,柱流量 60 mL/min,气化室温度:280 °C,毛细管柱程序升温从 70 °C 开始,保持 2 min,以 10 °C/min 的速度升到 255 °C,并保持 25 min,再以 10 °C/min 的速度升到 270 °C,并保持 5 min;质谱条件:5973N 型质谱仪(美国安捷伦公司),EI 离子源(电子轰击源),电离电压为 70 eV,离子源温度为 230 °C,相对分子质量扫描范围 30~550 AMU,进样量 1.0 μL,分流比 50:1,扫描周期 1 s。

(3) 对白蛾黑基啮小蜂的引诱作用。为观察杨小舟蛾蛹提取物对白蛾黑基啮小蜂雌蜂搜索寄主行为的影响,取 2 根“L 形”玻璃管,在合并成 U 形管前先将 1 头雌蜂放置于 2 根“L 形”管中间,再分别将滴有 2 种提取物的滤纸片放在 U 形管的一端,另一端放置 1 头杨小舟蛾蛹,观察白蛾黑基啮小蜂对两者的反应,并记录小蜂首次接触到试验材料的时间。每次观察 10 管,重复 4 次。

(4) 对白蛾黑基啮小蜂寄主接受能力的影响。为调查杨小舟蛾蛹表提取物能否提高白蛾黑基啮小蜂对杨小舟蛾的寄生率,用小毛刷在杨小舟蛾蛹表分别轻轻涂上 1 层 2 种提取物各 0.1 mL,然后接入已交配过的白蛾黑基啮小蜂雌蜂 1 头。对照组直接使用杨小舟蛾蛹(不涂提取物)。每组试验处理 5 头,重复 4 次。统计啮小蜂的寄生率。

1.3.4 数据处理 采用 SAS 统计软件多重比较重复 *t* 检验法,检验各处理指标间差异的显著性^[9]。

2 结果与分析

2.1 视觉对啮小蜂寄主接受行为的影响

用杨树叶、擦镜纸包裹杨小舟蛾蛹,发现白蛾黑基啮小蜂雌蜂的视觉,在搜寻寄主蛹过程中的作用大大减弱,甚至不能直接看到寄主蛹,但其寄生率与对照组相比均无显著差异;而用保鲜膜包裹寄主蛹,白蛾黑基啮小蜂雌蜂的视觉作用基本上未受到多大影响,但白蛾黑基啮小蜂的寄生率却明显下降,仅为

15.00% ,与对照组寄生率存在显著差异 ($P < 0.05$) (见表 1)。由于用保鲜膜包裹寄主蛹完全隔绝了小蜂与寄主的化学联系 ,因此可以认为嗅觉在白蛾黑基啮小蜂雌蜂接受寄主过程中起主要作用 ,而视觉仅起辅助作用。

表 1 不同材料密封寄主蛹对接受行为的影响

处理材料	子代出蜂量/头	性比	寄生率/%
杨树叶	62.74 ± 9.85 a	12.68 ± 2.49 a	45.00 ± 20.82 ab
擦镜纸	62.15 ± 3.33 a	7.98 ± 2.38 a	37.50 ± 5.00 ab
保鲜膜	52.13 ± 35.61 a	7.53 ± 6.06 a	15.00 ± 12.91 a
对照	59.74 ± 7.95 a	9.63 ± 1.94 a	47.50 ± 33.04 b

不同小写字母表示在 $P < 0.05$ 水平上存在显著性差异。

2.2 白蛾黑基啮小蜂对已寄生寄主的识别能力

2.2.1 白蛾黑基啮小蜂产卵管在已寄生和未寄生蛹上插入时间调查 白蛾黑基啮小蜂在未寄生蛹上产卵管插入时间平均为 172.10 s ,而在已寄生过的寄主蛹上插入的时间平均为 17.31 s。2 者相差近 10 倍 ,存在极显著差异 ($P < 0.01$) (见表 2) ,可见白蛾黑基啮小蜂对已寄生寄主蛹具有较强的识别能力。

表 2 白蛾黑基啮小蜂雌蜂对已寄生寄主的识别能力

处理	子代出蜂量/头	产卵管插入平均时间/s
未寄生蛹	65.43 ± 20.43 a	172.10 ± 37.47 aA
已寄生蛹	63.80 ± 18.94 a	17.31 ± 11.98 bB

不同大小写字母分别表示在 $P < 0.01$ 和 $P < 0.05$ 水平上存在显著性差异。

2.2.2 白蛾黑基啮小蜂在已寄生和未寄生蛹中所产子代数的比较 白蛾黑基啮小蜂在已寄生和未寄生蛹中所产子代出蜂量无显著差异 (见表 2) ,这一结果也从另一侧面佐证了白蛾黑基啮小蜂能够识别已寄生寄主蛹的研究结论。

2.3 杨小舟蛾蛹表提取物对白蛾黑基啮小蜂寄生行为的影响

2.3.1 杨小舟蛾蛹表提取物成分初步分析 采用 GC/MS 联用仪对 2 种提取物的化学成分进行了分析 ,对离子流图 (见图 1、2) 中的各峰经质谱扫描后得到质谱图 ,经计算机质谱数据库检索 ,按各色谱峰的质谱裂片图并结合有关文献^[10] 峰质荷比和相对丰度进行直观比较 ,同时还对一些主要组分采用标准物质对照 ,分别对各色谱峰加以确认 ,鉴定了各组分中的化学成分 ,按面积归一法确定组分相对含量。

从未寄生蛹蛹表提取物中共分离确定出 26 个

化合物 ,占色谱总流出峰面积比率为 97.418%。其中主要成分为羊毛甾醇 (62.411%)、 α -乙基十氢化- α 5,5,8a-四甲基-2-甲基烯-1-烯基-1-萘丙醇 (8.527%)、(3 β ,5 α ,11 β)-雄甾-3,11-二醇 (5.824%)、7-乙基-1,2,3,4,4a,5,6,7,8,10,10a-十二氢化-4a,7-二甲基-1-甲基烯菲 (4.326%) 等。

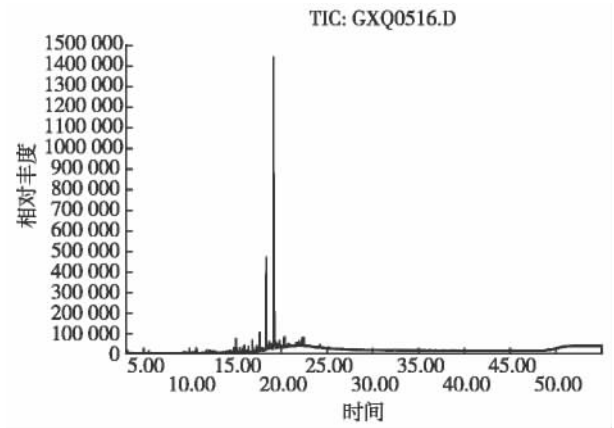


图 1 未寄生杨小舟蛾蛹中化学成分气相色谱离子流

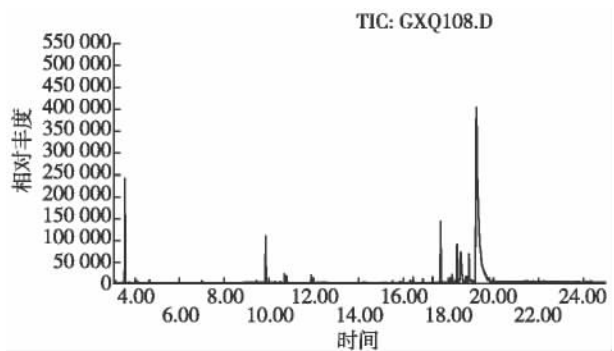


图 2 已寄生杨小舟蛾蛹中化学成分气相色谱离子流

从已寄生蛹蛹表提取物中检测出 10 个化合物 ,占色谱总流出峰面积比率为 93.436%。其中主要成分为十氢化-5-(羟甲基)-5,8a-二甲基- γ ,2-双(亚甲基)-1-萘戊醇 (73.516%)、3-O-甲基-d-甘露醇 (7.144%)、1R- α -蒎烯 (4.465%)、7-乙基-1,2,3,4,4a,5,6,7,8,9,10,10a-十二氢化-1,1,4a,7-四甲基菲 (3.656%) 等。

2.3.2 杨小舟蛾蛹表提取物对白蛾黑基啮小蜂的引诱作用及寄主接受能力的影响 白蛾黑基啮小蜂雌蜂从 U 形管底部搜寻到一端滴有未寄生蛹表提取物纸片的平均数量比例为 87.50% ,而搜寻到滴有已寄生蛹表提取物纸片的数量比例仅为 22.50% ,2 者存在极显著差异 ($P < 0.01$) (见表 3) ,表明杨小

舟蛾蛹表提取物对白蛾黑基啮小蜂雌蜂具有极强的引诱作用。从搜寻到的时间来看,白蛾黑基啮小蜂搜寻到未寄生蛹蛹表提取物纸片的平均时间仅为 45.33 s,显著低于对照组(81.94 s) ($P < 0.05$);而搜寻到已寄生蛹蛹表提取物纸片的平均时间长达 111.29 s,与对照组无显著差异,但极显著长于搜寻

到未寄生蛹蛹表提取物的时间($P < 0.01$),而它们并不能显著提高白蛾黑基啮小蜂对寄主蛹的寄生率(见表 3)。这可能是由于在 1 个小栖境里,啮小蜂总能搜寻到寄主蛹并寄生,差异只是表现在时间的长短上。

表 3 杨小舟蛾蛹表提取物对白蛾黑基啮小蜂接受寄主行为的影响

处理	搜寻到滴有提取物纸片的比例/%	搜寻时间/s	寄生率/%
未寄生蛹蛹表提取物	87.50 ± 9.57 aA	45.33 ± 10.18 aA	70.00 ± 11.55 a
已寄生蛹蛹表提取物	22.50 ± 9.57 bB	111.29 ± 27.60 bB	60.00 ± 28.28 a
对照		81.94 ± 12.31 bAB	65.00 ± 10.00 a

不同大小写字母分别表示在 $P < 0.01$ 和 $P < 0.05$ 水平上存在显著性差异。

3 讨论

寄生蜂在与寄主长期协同进化的过程中,形成了许多与它们生存和生殖相适应的行为,其中寄生蜂搜寻寄主的行为机制一直是人们研究的热点。本文通过一系列试验证明:视觉对白蛾黑基啮小蜂搜寻寄主——杨小舟蛾蛹时的影响非常小,而嗅觉是起主导作用的因子,而且该寄生蜂能够识别已寄生和未寄生的杨小舟蛾蛹。

是什么因子能让白蛾黑基啮小蜂识别寄主并能避免重复寄生?作者对已寄生和未寄生的蛹表提取物中化学成分进行了初步分析,结果表明 2 种蛹表提取物中的化学成分,特别是其中组分最大的物质已发生了很大变化。未寄生蛹表提取物中含有大量的羊毛甾醇(62.411%),而在已寄生蛹中却不存在该物质。该物质可能是白蛾黑基啮小蜂在寄主蛹内产卵后,伴随着释放一系列物质而形成的,这些物质可能包括白蛾黑基啮小蜂毒液、子代蜂孵化时浆膜分解而形成的畸形细胞等^[11-13],也可能是子代蜂幼虫消耗寄主体内营养,造成其成分发生变化而产生的。

高浓度的未寄生蛹表提取物能吸引白蛾黑基啮小蜂更快速而准确地找到寄主,但在小栖境里,并不能显著提高其寄生率。可以说杨小舟蛾蛹体表物质中含有能引诱该寄生蜂的利它素,到底是何种物质,还有待进一步研究。

参考文献:

[1] Bacher S, Casas J, Wackers F, et al. Substrate vibrations elicit

defensive behaviour in Leafminer pupae [J]. Journal of Insect Physiology, 1997, 43(10): 945-952.

[2] Dorn S, Schumacher P, Abivardi C, et al. Global and regional pest insects and their antagonists in orchards: spatial dynamics [J]. Agriculture, Ecosystems and Environment, 1999, 73(2): 111-118.

[3] Kerkut G A, Gilbert L. Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology [M]. New York: Pergamon Press, 1985.

[4] 刘万学, 杨 勇, 万方浩, 等. 丽蚜小蜂对 B 型烟粉虱不同利它素源的行为反应 [J]. 中国生物防治, 2008, 24(2): 97-102.

[5] 高文财, 邢 飞, 任炳忠. 昆虫利它素的研究概况 [J]. 吉林师范大学学报: 自然科学版, 2005, 2(1): 36-38.

[6] 杨忠岐, 魏建荣. 寄生于美国白蛾的黑棒啮小蜂中国二新种(膜翅目: 姬小蜂科) [J]. 林业科学, 2003, 39(5): 67-73.

[7] 郭同斌, 杜 伟, 刘忠刚, 等. 杨小舟蛾的发生规律 [J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2006, 30(5): 115-118.

[8] 郭同斌, 嵇保中, 诸葛强, 等. 转 Bt 基因杨树(NL-80106)对杨小舟蛾抗性研究 [J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2004, 28(6): 5-9.

[9] 高惠璇, 李东风, 耿 直, 等. SAS 系统与基础统计分析 [M]. 北京: 北京大学出版社, 1995: 117-138.

[10] 中国谱学会有机专业委员会. 香料质谱图集 [M]. 北京: 科学出版社, 2000.

[11] Strand M R, Noda T. Alterations in the haemocytes of *Pseudoplusia includens* after parasitism by *Microplitis demolitor* [J]. Journal of Insect Physiology, 1991, 37(11): 839-850.

[12] Tremblay E, Caltagirone L E. Fate of polar bodies in insects [J]. Annual Review Entomology, 1973(18): 421-444.

[13] Arakawa T, Kitano H. A possible reason for the decrease of the number of teratocytes in the body cavities of *Peiris rapae crucivora* Boisduval (Lepidoptera: Pieridae) parasitized by *Apanteles glomeratus* L [J]. Journal of Applied Entomology and Zoology, 1989(24): 229-231.