

文章编号:1001-7380(2019)02-0013-04

管氏肿腿蜂寄生对松墨天牛幼虫体质量和营养物质含量的影响

徐丽丽,郑华英,解春霞,刘云鹏

(江苏省林业科学研究院,江苏 南京 211153)

摘要:管氏肿腿蜂是多种林木钻蛀性害虫的抑性寄生蜂,雌蜂通过蜇刺抑制寄主氧化反应。为明确肿腿蜂寄生后寄主体内营养物质含量的变化,运用考马斯亮蓝法、蒽酮比色法和残余法,对蜇刺后第0日(初始组)、第2日(寄主初麻痹时)、第14日(子代幼蜂初孵时)处理组 and 对照组的松墨天牛幼虫体质量、蛋白质、总糖和脂质含量进行测定。结果表明:管氏肿腿蜂寄生后,寄主体质量持续下降;体内蛋白质含量在寄主麻痹初期极显著升高,而在幼蜂初孵时则极显著下降;脂质含量在寄主初麻痹时未见显著变化,而幼蜂孵化前升高显著;但寄主体内的总糖含量变化不显著。研究结果说明,管氏肿腿蜂雌蜂寄生寄主,对寄主体内蛋白质、糖类、脂质代谢产生了影响。

关键词:管氏肿腿蜂;松墨天牛;抑性寄生;营养代谢;外寄生蜂

中图分类号:O629;S763.38;S763.43

文献标志码:A

doi:10.3969/j.issn.1001-7380.2019.02.004

Effects of parasitization by *Sclerodermus guani* (Hymenoptera: Bethyridae) on body weight and nutrient content of *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae) larvae

Xu Lili, Zheng Huaying, Xie Chunxia, Liu Yunpeng

(Jiangsu Academy of Forestry, Nanjing 211153, China)

Abstract: *Sclerodermus guani* is idiobiont parasitoid of many wood-boring insects. The females inject venom and ovarian proteins by sting to inhibit oxidation of host insect. To investigate effects of parasitization by *S. guani* on nutrient content of *Monochamus alternatus* host larvae, the total protein, lipid and total carbohydrate contents of the healthy and parasitized host insects on day 0, 2 and 14 were examined using Bradford's method, Anthrone colorimetry and the residue weight method, respectively. The results were as follows: After parasitization, the weight of *M. alternatus* larvae decreased consistently; Protein contents of *M. alternatus* increased significantly on day 2, but significantly reduced on day 14; No significant change in lipid contents of *M. alternatus* occurred on day 2, but increased significantly on day 14; Total carbohydrate contents had no difference between healthy and parasitized host larvae consistently. The results suggested that *S. guani* could regulate the metabolism of protein, lipid and carbohydrate of host larvae after parasitization, which would provide a basis for further studies on the mechanisms of nutritional metabolism of the host regulated by *S. guani*.

Key words: *Sclerodermus guani*; *Monochamus alternatus*; Idiobiont; Nutrition metabolism; Ectoparasitoid

管氏肿腿蜂 (*Sclerodermus guani*), 属膜翅目 (Hymenoptera) 硬皮肿腿蜂属, 是多种天牛类林木钻蛀性害虫的优势天敌昆虫, 具有寄主类别多, 分布

区域广, 寄生效果好等特点, 已大规模应用于天牛类害虫的生物防治^[1-4]。因此, 管氏肿腿蜂在钻蛀性害虫的生物防治、种群调控和维持生态平衡上起

收稿日期:2019-03-06;修回日期:2019-03-18

基金项目:江苏省林业科技创新与推广项目“珍贵彩色树种主要蛀干害虫防控新技术集成与示范”(LYKJ[2017]32);江苏省林业科学研究院青年基金项目“管氏肿腿蜂产卵器感器结构研究”(JAF-2016-06)

作者简介:徐丽丽(1991-),女,浙江台州人,研究实习员,硕士。主要研究方向:森林保护学。

着重要的作用^[5]。目前该昆虫的研究着重于室内规模化繁育与野外应用技术,但其寄生机理仍待进一步研究^[6-8]。

天敌对寄主的寄生,可分为容性寄生和抑性寄生。目前,国内外在容性寄生蜂对寄主营养物质的调控方面研究较多,认为寄生蜂寄生寄主昆虫后,会对寄主体内代谢进行调控,包括调控游离氨基酸含量、蛋白质合成、糖代谢以及诱导内分泌变化等,使其体内的营养物质维持适宜幼蜂生长发育的状态^[9-12]。吴华、谭毅等的研究发现接种抑性寄生蜂也同样会影响寄主体内的糖代谢和蛋白质含量^[13-14]。管氏肿腿蜂对寄主的寄生属抑性寄生,有报道称其雌蜂通过蜇刺注射毒液和卵巢蛋白,使得寄主处于麻痹状态,能够有效的抑制寄主的氧化反应^[15-16]。由此可见,雌蜂的蜇刺对下一代幼虫的生长发育提供相应的营养物质至关重要。本文对管氏肿腿蜂寄生后寄主体内蛋白质、总糖和脂质的含量变化进行研究,以期探索雌蜂对寄主的营养影响机理。旨在为进一步了解寄生蜂对寄主影响的生理机制和分子作用机理研究提供新的思路,为提高寄生性天敌昆虫的防治作用提供理论依据,还可以为其他天敌昆虫控害作用的研究提供借鉴经验。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

本次试验所用松墨天牛5龄幼虫,于2017年12月采集自溧阳天目湖镇的马尾松上,管氏肿腿蜂雌蜂种蜂购自南京康林宝生物科技有限公司。

1.2 试验设计

随机从90头松墨天牛幼虫中选取30头,直接测取蛋白质、总糖和脂质含量,为第0日数据(初始组)。剩余60头随机分成2组(各30头),置于1cm径口的玻璃管内,其中一组接种管氏肿腿蜂,每头天牛人为接种管氏肿腿蜂雌蜂5头,为处理组;另一组不进行接蜂,为对照组。使用棉花堵塞管口,防止天牛和肿腿蜂逃逸。然后,置于江苏省天敌生物繁育场内,室内温度保持恒温28℃,24h黑暗。在以下各个时间点取出天牛,进行蛋白质、总糖和脂质含量测定:①处理组天牛初被麻痹时(第2日)。②处理组肿腿蜂所产卵开始孵化时(第14日)。其中,处理组进行物质含量测定前,去除肿腿蜂雌蜂和其所产的卵。所有处理中每一物质的测定为10个重复。

1.3 蛋白质的测定方法

考马斯亮蓝法^[17]。使用不同浓度的标准蛋白-考马斯亮蓝G-250溶液,制作蛋白质标准曲线。天牛样品称质量(W)后,放入研钵中,加入5mL蒸馏水在冰浴中研磨匀浆,离心(4000 r/min, 10 min),取上清液用于蛋白质含量的测定。取0.1mL上清液,加入0.9mL蒸馏水,再加入5mL考马斯亮蓝G-250试剂,充分混合,室温静置2min后,以加入5mL考马斯亮蓝G-250试剂和1mL蒸馏水的试管作参比,在595nm波长下比色,记录吸光度。根据所测样品提取液的吸光度,在标准曲线上查得相应的蛋白质含量 C ($\mu\text{g/mL}$)。

最终所得蛋白质含量 X (mg/g) = $C \times 5 / (1000 \times W)$ 。

C —根据标准曲线查的样品提取液中的蛋白质含量(mg/mL);

W —样品质量(g);

5—样品提取液体积(mL)。

1.4 总糖的测定方法

蒽酮比色法^[18]。使用不同浓度的葡萄糖标准液-10%三氯乙酸-蒽酮试剂,制作总糖标准曲线。样品称重(W),加入1mL体积分数10%三氯乙酸溶液和少许石英砂,充分匀浆后加入4mL冲洗研磨棒。离心(5000 r/min)5min后,去上清液。再向沉淀中加入5mL 10%三氯乙酸溶液,再离心去上清液。合并2次上清液(V),取1mL加入蒽酮硫酸试剂,用蒽酮比色法测定糖含量。在DU650紫外分光光度计吸收峰为620nm纳米处测定反应物(C)。

最终所得总糖含量 X (mg/g) = $(C \times V) / W$ 。

C —根据标准曲线查的样品提取液中的总糖含量(mg/mL);

W —样品质量(g);

V —样品提取液体积(mL)。

1.5 脂质的测定方法

残余法^[19]。用电子天平称量幼虫的湿质量(W),然后将其放在60℃的烘箱中干燥72h至恒质量,再测其干质量(DW)。取烘干幼虫,置于10mL的离心管中,研磨,加入4mL氯仿和甲醇的混合液(氯仿:甲醇=2:1),匀浆。离心10min(2600g),移去上层清液。残渣再加入4mL氯仿和甲醇的混合液,匀浆,离心,移去上层清液,以上操作重复3次。剩余残渣在60℃的烤箱中烘烤72h至恒质量(LDW)。

最终所得脂质含量 X (%) = $[(DW - LDW) / W]$

×100

W—样品湿质量(g);

DW—样品干质量(g);

LDW—除去脂质剩余残渣干质量(g)。

1.6 数据分析

数据的统计与计算分析使用了 Microsoft Office Excel(微软公司,美国);数据的方差分析与相关柱状图使用 Graphpad Prism 5(Graphpad 公司,美国)软件,差异性分析使用单因素方差分析, Tukey's 多重比较。

2 结果与分析

2.1 管氏肿腿蜂寄生对天牛虫体质量的影响

松墨天牛幼虫体质量变化如图 1 所示。处理组与对照组的的天牛湿质量皆随时间变化。麻痹初期,处理组天牛的湿质量显著低于初始组和同期对照组;幼蜂初孵时,天牛的湿质量显著低于麻痹初期和同期对照组。寄主由于肿腿蜂影响导致的质量大幅下降主要是在0—2 d,为雌蜂进食和毒液注射的主要时期,后期雌蜂的进食减少,对寄主的质量影响减小。在0—2 d里,处理组天牛湿质量下降大于对照组,在2—14 d里,对照组天牛质量下降了0.168 g,而处理组下降0.155 g,

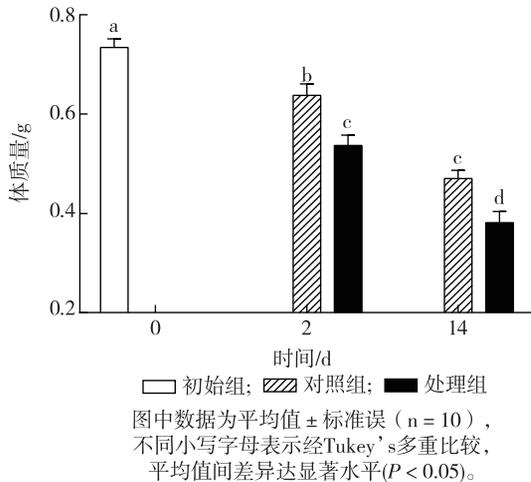


图1 松墨天牛幼虫体质量变化

2.2 管氏肿腿蜂寄生对天牛虫体蛋白质含量的影响

松墨天牛虫体内的蛋白质含量变化如图 2 所示。处理组天牛虫体蛋白质含量,在麻痹初期极显著高于初始组和同期对照组;在幼蜂初孵时极显著低于麻痹初期和同期对照组。

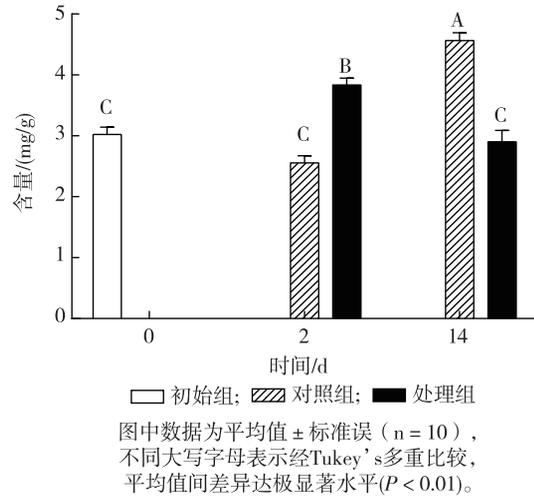


图2 松墨天牛虫体的蛋白质含量变化

2.3 管氏肿腿蜂寄生对天牛虫体总糖含量的影响

松墨天牛虫体总糖含量变化如图 3 所示。处理组、对照组天牛虫体总糖含量随时间变化差异不显著。

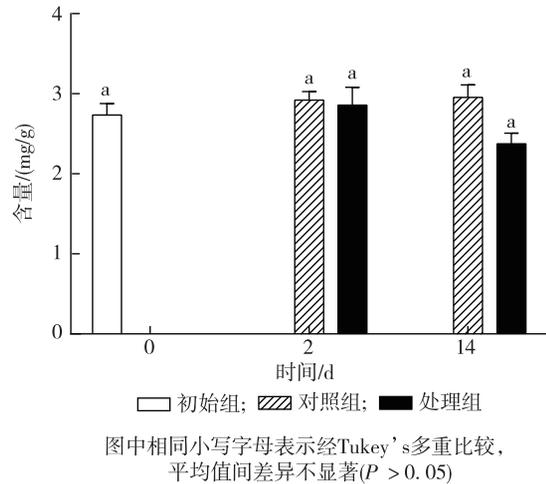


图3 松墨天牛虫体的总糖含量变化

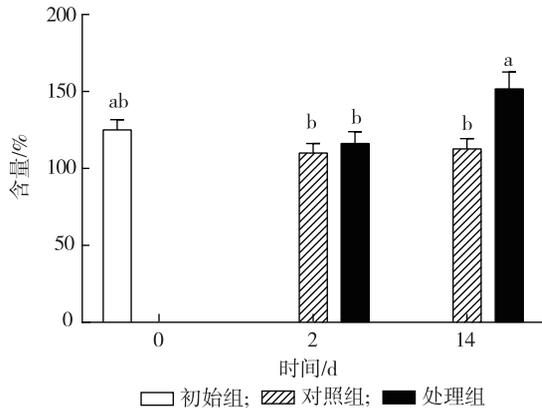
2.4 管氏肿腿蜂寄生对天牛虫体脂质含量的影响

松墨天牛虫体脂质含量变化如图 4 所示。处理组天牛脂质含量,在麻痹初期,与初始组和同期对照组无显著差异;在幼蜂初孵时,显著高于麻痹初期和同期对照组。

3 结论与讨论

管氏肿腿蜂寄生后,寄主湿质量持续下降;体内蛋白质含量前期升高,后期下降;脂质含量在后期大幅升高;但寄主体内的总糖含量变化不显著。

处理组和对照组的总糖含量未见差异,而吴华



图中不同小写字母表示经Tukey's多重比较, 平均值间差异达显著水平($P < 0.05$)

图 4 松墨天牛虫体的脂质含量变化

的研究发现管氏肿腿蜂会导致寄主体内海藻糖、糖原含量持续下降,还原糖的含量大幅增加,由此可见雌蜂蜇刺、取食后寄主体内总糖含量仍维持较为稳定的状态,可能有其他营养物质向糖类转化^[13]。寄主依然可以进行正常的糖代谢,不同种类的糖类之间进行相互转化,以此维持寄主天牛的基本生存。

处理组虫体蛋白质含量在麻痹初期显著高于对照组,而在幼蜂初孵时低于同期对照组。这一变化与前人研究大体相似,黑头异脉茧蜂(*Toxoneuron nigriceps*)寄生烟芽夜蛾(*Heliothis virescens*),日本柄瘤蚜茧蜂(*Lysiphlebus japonicus*)寄生黑豆蚜(*Aphis craccivora*)后,寄主体内的蛋白质含量皆表现为寄生前期高于对照组,而在后期低于对照组^[20-21]。前期蛋白质含量的增加可能是由于肿腿蜂蜇刺促使寄主产生免疫反应,生成与之相关的蛋白酶^[12]。而在幼蜂初孵时,虫体脂质含量高于麻痹初期和同期对照组,这与季香云等报道的淡足侧沟茧蜂(*Microplitis pallidipes*)寄生甜菜夜蛾(*Spodoptera exigua*)后,其虫体脂质含量高于未寄生幼虫的研究结果相类似^[22]。综上所述,在第2—14天中,寄主体内可能存在蛋白质向脂质转化。脂质是机体储存的主要物质,蛋白质是寄主生长发育和新陈代谢的重要物质基础,对于肿腿蜂而言通过影响寄主体内蛋白质向脂质和糖类转化,在保证寄主存活的前提下,可以有效抑制寄主的新陈代谢和生长发育,使其存储更多的能量物质以供下一代幼虫取食。

参考文献:

[1] 杨忠岐,王小艺,曹亮明,等.管氏肿腿蜂的再描述及中国硬皮肿腿蜂属 *Sclerodermus* (Hymenoptera: Bethyilidae) 的种类[J]. 中国生物防治学报, 2014, 30(1):1-12.

[2] 张志,张玉玲,王志远,等.管氏肿腿蜂防治白杨透翅蛾试验[J]. 吉林林业科技, 2018, 47(1):7-10,13.

[3] 姚万军,杨忠岐.利用管氏肿腿蜂防治光肩星天牛技术研究[J]. 环境昆虫学报, 2008, 30(2): 127-134.

[4] 王小军,郭桂凤.应用管氏肿腿蜂防治双条杉天牛技术研究[J]. 中国森林病虫, 2007, 26(4): 28-29,34.

[5] 詹斌.沿海防护林天牛类蛀干害虫生物防治技术研究[D]. 杭州:浙江农林大学, 2018.

[6] 杨文波,吴国星,吴道慧,等.不同蜂虫比对管氏肿腿蜂繁育效果的影响[J]. 中国生物防治学报, 2018, 34(2): 234-239.

[7] 胡镇杰,杨海博,林晓民,等.低温处理替代寄主对管氏肿腿蜂繁殖的影响[J]. 中国生物防治学报, 2017, 33(2): 165-170.

[8] 李登泰,何小丽,熊建宏,等.利用管氏肿腿蜂防治松幽天牛幼虫试验[J]. 中国森林病虫, 2016, 35(1): 34-37.

[9] NAKAMATSU Y, GYOTOKU Y, TANAKA T. The endoparasitoid *Cotesia kariyai* (Ck) regulates the growth and metabolic efficiency of *Pseudaletia separata* larvae by venom and Ck polydnavirus[J]. Journal of insect physiology, 2001, 47(6): 573-584.

[10] THOMPSON S N. Parasitism enhances the induction of gluconeogenesis by the insect, *Manduca sexta* L[J]. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2001, 33(2):163-173.

[11] 汪海燕,余虹,万志伟,等.菜蛾盘绒茧蜂对寄主小菜蛾幼虫营养的调节和利用[J]. 昆虫学报, 2006, 49(4): 574-581.

[12] 时敏,陈学新.我国寄生蜂调控寄主生理的研究进展[J]. 中国生物防治学报, 2015, 31(5): 620-637.

[13] 吴华.管氏肿腿蜂个体发育、产卵行为及寄主选择性研究[D]. 南京:南京林业大学, 2012.

[14] 谭毅,周祖基,黄琼,等.替代寄主被川硬皮肿腿蜂寄生后主要糖类含量及水解酶系活力的变化[J]. 林业科学, 2003, 39(4): 73-77.

[15] 贺凯,徐志强,代平礼.管氏肿腿蜂对黄粉甲的寄生行为[J]. 昆虫学报, 2006, 49(3): 454-460.

[16] 朱家颖,杨璞,吴国星,等.管氏肿腿蜂毒液器官超微结构观察[J]. 四川动物, 2011, 30(3): 404-408.

[17] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72(1-2):248-254.

[18] DUBOIS M, GILLES K A, HAMILTON J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances[J]. Analytical Chemistry, 1956, 28(3): 350-356.

[19] KOSTALI V, SULA J, SIMEK P. Physiology of drought tolerance and cold hardiness of the Mediterranean tiger moth *Cymbalophora pudica* during summer diapause[J]. Journal of Insect Physiology, 1998, 44(2): 165-173.

[20] CÔNSOLI F L, BRANDT S L, COUDRON T A, et al. Host regulation and release of parasitism-specific proteins in the system *Toxoneuron nigriceps*-*Heliothis virescens*[J]. Comparative Biochemistry & Physiology, Part B: Biochemistry & Molecular Biology, 2005, 142(2): 181-191.

[21] 甘明,苗雪霞,丁德诚.日本柄瘤蚜茧蜂的寄生对黑豆蚜生化代谢的影响[J]. 植物保护学报, 2003, 30(3): 255-260.

[22] 季香云,印杨毅,万年峰,等.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[J]. 应用昆虫学报, 2013, 50(6): 1637-1642.