

· 害虫行为调控与抗药性 ·

寄生蜂与作物害虫免疫及发育互作： 研究热点与主要科学问题探讨

叶恭银* 方琦

浙江大学 水稻生物学国家重点实验室/农业农村部 作物病虫分子生物学重点实验室/
浙江省作物病虫生物学重点实验室/昆虫科学研究所,杭州 310058

[摘要] 寄生蜂是重要的寄生性天敌昆虫,在作物害虫绿色防控中发挥有重要作用。近年来,有关寄生蜂与作物害虫免疫及发育互作研究已有不少报道,已逐渐成为害虫生物防治研究领域热点之一。本文将首先概述寄生蜂所携寄生因子种类与多样性,及其与寄主免疫与发育互作方面的研究热点,进而初步探讨该研究领域的主要科学问题,并简要讨论该领域所面临的机遇与挑战。建议应关注的主要科学问题为:(1) 作物害虫天然免疫通路解析及其应答机理;(2) 寄生蜂寄生因子功能及其调控害虫免疫机理;(3) 寄生因子与害虫免疫通路间互作及协同演化;(4) 寄生因子与害虫发育调控网络互作机理。

[关键词] 寄生蜂;寄生因子;寄主;免疫;发育

农作物害虫防治是保障粮食安全和农业生产安全的重要防灾减灾措施,其中化学农药防治因具有快速高效、应急性强、使用简便、不受地域和季节限制、便于机械化操作等特点而在过去往往被主要依赖。但是,化学农药的过度依赖尤其是不合理使用不仅会导致农药残留超标引起的食品安全问题和农业面源污染引发的生态安全问题,而且会导致害虫抗药性产生、生物多样性下降和防治效果减弱等问题。为此,我国于2015年就开始实施农药和化肥“两减行动计划”。要打赢“两减”这场硬仗,需提高绿色农业投入品的供给能力,研发并推广作物害虫高效低风险的绿色防控技术及其配套,以支撑“两减”目标达成。其中涉及一项重要的现代植物保护技术,即天敌昆虫活体及其衍生物的高效利用,该技术是推进化学杀虫剂减量控害的有效措施之一。但是,至今作为重要天敌昆虫类群的寄生蜂,其利用仍停留于活体应用,尚存在规模难以扩大与效能有待提高等缺陷或不足。深入研究并阐明寄生蜂与寄主害虫间互作关系,尤其是寄生蜂调控寄主免疫与发



叶恭银 浙江大学教授、博士生导师,水稻生物学国家重点实验室副主任,国家杰出青年科学基金项目获得者,中组部“万人计划”科技创新领军人才。主要从事昆虫生理与分子生物学、作物害虫生物防治等研究与教学,重点研究寄生蜂与害虫互作机制及寄生蜂寄生因子功能基因挖掘与应用,在 *Mol Biol Evol*、*Ann Rev Entomol* 等国内外期刊发表论文 400 余篇,获授权国家发明专利 10 余项。

育机理,将有助于推进寄生蜂及其衍生物在作物害虫绿色防控中发挥更大的作用。该研究已逐渐成为害虫生物防治研究领域的热点之一。

寄生蜂隶属膜翅目,种类丰富,寄生蜂策略与特性多样,系农田生态系统中作物害虫种群寄生的重要生态控制因子,被广泛应用于害虫绿色防控。寄生蜂雌蜂或其子代通常携带有与其寄生成功密切相关的生物活性寄生因子,这些因子可由寄生蜂雌蜂或其子代胚胎或幼虫分泌并被释放至寄主害虫血腔内,以调控寄主生理状态,确保寄生蜂子代在寄主体表或体内正常发育,使其种群得以繁衍,而寄主害虫则被有效控制(表 1)^[1]。有关寄生蜂寄生因子研

收稿日期:2020-02-28;修回日期:2020-04-22

* 通信作者,Email:chu@zju.edu.cn

本文受国家自然科学基金重点项目(31830074)和国家自然科学基金重点国际(地区)合作研究项目(31620103915)的资助。

究,多关注于毒液(Venom)和多分DNA病毒(Polydnavirus,PDV)。其中,寄生蜂毒液与非寄生蜂动物毒液组成的普遍规律类似,由蛋白/肽类、非蛋白/肽类物质组成^[2]。外寄生蜂毒液蛋白中含有与胡蜂、蜜蜂等社会性膜翅目昆虫毒液蛋白类似的组分,此类组分可有效引起寄主害虫麻痹,使其子代在取食寄主时免受寄主行为扰动^[3];内寄生蜂毒液蛋白则缺乏麻痹作用,而表现出抑制寄主害虫天然免疫、延缓寄主害虫发育等作用,也可与其它寄生因子协同作用^[4]。PDV系寄生蜂的共生双链DNA病毒,隶属多分DNA病毒科(Polydnaviridae),为寄生蜂特有,其病毒粒子仅在雌蜂生殖系统萼区细胞中产生。PDV在寄生蜂产卵时被注入寄主血腔内,进而进入寄主细胞,并借助其进行表达。PDV部分毒性相关基因的蛋白表达产物,可显著抑制寄主天然免疫反应,并调控寄主发育、代谢及内分泌^[5]。经长期演化,寄生蜂与寄主害虫间形成了相对稳定的互作关系,寄生蜂利用寄生因子成功寄生害虫,寄主害虫则通过自身免疫反应来应对寄生蜂入侵。来自寄主害虫的选择最终导致寄生蜂寄生策略呈现多样性(图1)^[6]。至今,有关寄生蜂与寄主害虫生理互作方面研究已取得不少新进展。为此,本文将对寄生蜂的寄生因子种类与多样性,及其与寄主害虫天

然免疫与发育互作方面的研究热点作一概述,进而探讨该研究领域发展中所需要解决的主要科学问题以及所面临的机遇与挑战。

1 寄生蜂寄生因子

1.1 寄生因子类型

寄生蜂之所以能确保其子代存活并繁衍,成功寄生寄主害虫以控制其种群数量,主要依赖于多类型寄生因子单一或协同行使生物学功能。寄生因子生物学功能主要是抑制寄主天然免疫、调节寄主发育,也有调控寄主神经反射和行为表型。迄今,已报道的寄生蜂寄生因子包括有:毒液、PDV、类病毒颗粒(Virus-Like Particle,VLP)、卵巢蛋白等雌蜂携带因子,及畸形细胞(Teratocyte)等由子代携带或释放的因子^[3]。此外,寄生蜂体内除含有PDV等DNA病毒外,亦可携带RNA病毒,其RNA病毒不仅可调控寄生蜂本身,也可能是一类潜在的寄生相关活性因子,参与寄生蜂与寄主间互作^[7]。不同类群寄生蜂携带有不同类型的寄生因子,寄生因子丰富度可能与寄生蜂种类及其寄主类型相关。如菜蛾盘绒茧蜂 *Cotesia vestali* 雌蜂具有2种寄生因子(PDV和毒液),其子代胚胎则可向寄主血腔内释放畸形细胞;斑痣悬茧蜂 *Meteorus pulchricornis* 雌蜂

表1 寄生蜂不同寄生因子与寄主间互作研究简况

寄主生理反应	寄生蜂寄生因子	代表性研究 ¹
免疫	毒液	Mortimer <i>et al.</i> , 2013; Wang <i>et al.</i> , 2013
	多分DNA病毒/类病毒颗粒	Beck and Strand, 2003; Dorémus <i>et al.</i> , 2014
	畸形细胞	Dahlman <i>et al.</i> , 2003; Ali <i>et al.</i> , 2015
	被动逃逸蛋白	Hu <i>et al.</i> , 2008; Han <i>et al.</i> , 2015
	毒液	Yan <i>et al.</i> , 2017; Lin <i>et al.</i> , 2018
体液免疫	多分DNA病毒	Lu <i>et al.</i> , 2008; Bitra <i>et al.</i> , 2012
	畸形细胞	Bell <i>et al.</i> , 2004; Burke and Strand, 2014
发育	毒液	Edwards <i>et al.</i> , 2006; Martinson <i>et al.</i> , 2014
	多分DNA病毒	Valzania <i>et al.</i> , 2014; Kumar <i>et al.</i> , 2016
	畸形细胞	Caccia <i>et al.</i> , 2005; Wang <i>et al.</i> , 2018
	毒液	Mrinalini <i>et al.</i> , 2015; Siebert <i>et al.</i> , 2019
代谢	多分DNA病毒	Prasad <i>et al.</i> , 2014; Ignesti <i>et al.</i> , 2018
	畸形细胞	Dahlman <i>et al.</i> , 2003; Ali <i>et al.</i> , 2013
其它	毒液	Kaiser <i>et al.</i> , 2019; Arvidson <i>et al.</i> , 2019
	多分DNA病毒	Cusumano <i>et al.</i> , 2018
	毒液	Vorburger <i>et al.</i> , 2016; Zhu <i>et al.</i> , 2018
	多分DNA病毒	Paredes <i>et al.</i> , 2016; Tan <i>et al.</i> , 2018
寄主与植物/微生物互作	畸形细胞	Gao <i>et al.</i> , 2016

¹ 代表性研究具体信息见参考文献(叶恭银等,2019)^[3]

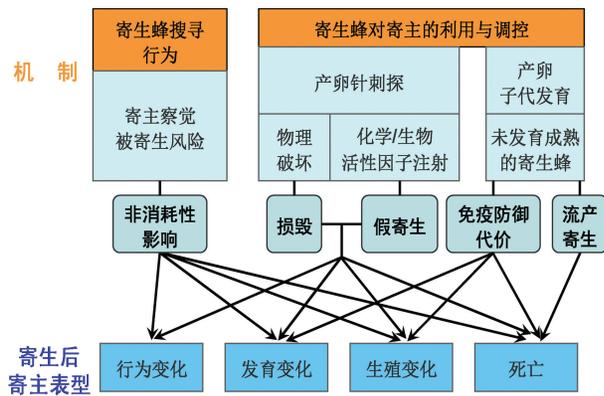


图 1 寄生蜂非生殖效应用于寄主害虫的机制及其对应表型(修改自 Abram *et al.* (2019)^[6])。

则携带有 VLP 与毒液。金小蜂科丽蝇蛹集金小蜂 *Nasonia vitripennis* (外寄生蜂) 及内寄生蜂蝶蛹金小蜂 *Pteromalus puparum* (内寄生蜂) 雌蜂均仅携带毒液^[3]。总体而言, 茧蜂和姬蜂科寄生蜂所拥有的寄生因子种类多于金小蜂科寄生蜂。

1.2 寄生因子组成多样性

目前, 有关同类寄生因子组成多样性研究多关注于毒液和 PDV。其中, 不同类群寄生蜂雌蜂皆拥有毒液, 作为一种保守的寄生因子, 毒液在寄生蜂与寄主害虫互作过程中均有着重要作用^[1]。随着核酸测序技术、蛋白质分离与鉴定技术及组学分析技术的不断发展, 微量甚至痕量的毒液蛋白组分鉴定已成为可能。目前已有多种寄生蜂毒液蛋白组分被解析。对毒液蛋白组分构成进行比较分析, 发现寄生蜂毒液蛋白组分构成比膜翅目社会性昆虫(如西方蜜蜂 *Apis mellifera*、红火蚁 *Solenopsis invicta* 等), 以及其它类群有毒节肢动物(如蝎子、蜘蛛)更复杂。其蛋白组分中最大类别为酶类, 其次为富含 Cys 残基结构域蛋白和肽类^[8]。虽然部分类别蛋白组分(如丝氨酸蛋白酶)在不同类群寄生蜂所携毒液中均可检出, 但寄生蜂毒液蛋白组分的构成仍然有着明显的种间差异。毒液蛋白鉴定结果也表明, 不同类群寄生蜂毒液中含有种间特异的未知蛋白组分^[9, 10]。毒液蛋白组分构成即使在寄生蜂近缘种间也存在有差异。例如丽蝇蛹集金小蜂与其同属近缘种吉氏金小蜂 *N. giraulti* 相比, 两者毒液蛋白组分构成就明显不同^[11]。即便是同种寄生蜂, 其不同地理种群间或种群内个体间的毒液蛋白组分构成也有差异。这可能与“寄生蜂—寄主害虫”系统多样性及两者间长期演化相关。

PDV 与毒液系寄生蜂保守共有不同, 仅存在于姬蜂和茧蜂等部分寄生蜂类群雌蜂中。PDV 与寄

主蜂基因组发生嵌套整合, 以病毒前体形式存在于雌蜂体内, 可垂直传播。正因该特性, 使 PDV 特殊的 DNA 病毒系统发生与起源颇值得研究。随着高通量测序技术发展与应用, 至今已有 13 种 PDV 全基因组完成测序。序列分析结果表明, 不同种类 PDV 具有类似的基因组结构特性, 这说明不同种类 PDV 间伴随其初级宿主(寄生蜂)发生了趋同演化。PDV 下分两属, 即 Bracovirus (BV) 和 Ichnovirus (IV) 属, BV 和 IV 两类病毒在基因组序列一致性上差异极显著, 两者未含有同类型基因家族, 据此推测 BV 和 IV 在进化生物学上拥有各自基因起源。推测 BV 可能起源于 1 亿年前的裸病毒 Nudivirus, 而 IV 则可能起源于另一未知病毒的整合事件^[12]。此外, 姬蜂科的云杉卷蛾雕背姬蜂 *Glypta fumi feranae* 和茧蜂科的阿里山潜蝇茧蜂 *Fopius arisanus* 所携带 PDV 与典型 BV 和 IV 序列同源性较低, 两者起源很可能为近期所发生的独立事件^[3]。由于 PDV 初级宿主及次级宿主(寄主害虫)间互作系统复杂且具多样性, 导致不同种类 PDV 起源于不同的独立事件, 其基因组所含毒性基因种类构成亦存在显著差异; 同时, 来源于相同进化事件的 PDV, 基因组所含毒性基因种类构成变化也相当显著^[13]。不同种类 PDV 具有不同毒性基因种类构成, 该特点与不同类群寄生蜂毒液蛋白组分构成上存在显著差异颇为类似, 说明寄生蜂不同类型寄生因子与其不同类型宿主间所发生协同演化速度较快, 进而提高了寄生蜂寄主适应性。此外, 寄生因子类型或其组分构成的多样性也预示着其相应功能的多样性。

2 寄生蜂调控寄主害虫免疫与发育

2.1 调控免疫

寄生蜂演化出一系列可调控或适应寄主免疫防御反应的策略, 包括主动抑制寄主天然免疫和被动逃避寄主免疫。对于前者, 寄生蜂主要依靠向寄主血腔内注入或释放各类寄生因子, 进而单独或协同干扰寄主天然免疫反应, 保护其子代免受寄主防卫与抵抗。后者则表现为寄生蜂卵或幼虫在寄主体外或体内特定空间或位置进行生长发育从而躲避寄主防御与攻击, 或依靠其卵、胚胎或幼虫表面的被动防御分子使寄主免疫系统无法对其进行正常识别或启动寄主包裹或黑化反应。下面就寄生蜂寄生因子与寄主天然免疫间互作研究进展作逐一介绍。

PDV 可通过致死效应或抑制细胞增殖等来降低寄主血细胞数量, 抑制血细胞免疫能力及改变免

疫相关基因表达等手段来抵抗寄主细胞免疫。如, 双斑侧沟茧蜂 *Microplitis bicoloratus* 的 PDV 感染寄主斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 后, 可导致其幼虫血细胞中亲环素 cyclophilin A 表达水平显著上调, 进而诱导血细胞发生凋亡, 以有效抑制寄主细胞免疫反应^[14]。二化螟盘绒茧蜂 *C. chilonis* 的 CcBV 可明显抑制寄主二化螟幼虫颗粒血细胞和浆血细胞延展^[4]。毁侧沟茧蜂 *M. demolitor* 的 *MdBV* 基因组中 *Glc1.8* 毒性基因表达产物及菜蛾盘绒茧蜂的 *CvBV* 基因组中 H4 毒性基因表达产物均可促使寄主幼虫血细胞丧失粘附或吞噬功能^[15]。微红盘绒茧蜂 *C. rubecula* 的 CrBV 中 CrV3 毒性基因可编码一种新型 C 型凝集素单体蛋白, 该基因在寄主幼虫血细胞与脂肪体中被表达, 其表达产物被分泌至寄主血浆, 并与其中免疫因子发生互作, 竞争性地干扰寄主细胞免疫^[16]。PDV 除可抑制寄主细胞免疫外, 也可抑制寄主血淋巴黑化过程, 该反应主要由酚氧化酶原水解激活所介导。例如: 毁侧沟茧蜂 *MdBV* 基因组中的 *Egf1.0* 毒性基因编码一类可抑制胰蛋白酶活性的小丝氨酸蛋白酶抑制因子 (*Egf1.0*), 该因子能显著抑制寄主幼虫血淋巴黑化, 其机理为通过蛋白互作来抑制寄主血淋巴中酚氧化酶原激活蛋白酶 PAP-3 活性; 当野生型 *Egf1.0* 的 P1-P1' 区域的精氨酸残基被丙氨酸取代后, 其抑制活性显著丧失^[17]。毁侧沟茧蜂 *MdBV* 基因组的毒性基因可编码 2 种行使 I κ B 类似功能的 ank 蛋白 (系 NF- κ B 转录抑制因子 I κ B 家族), 表面离子共振与免疫共沉淀结果表明, 这两种蛋白与黑腹果蝇 Dif 和 Dorsal 同源二聚体结合能力显著强于其与 Relish 同源二聚体, 与 Relish 同源二聚体结合能力强于 Cactus, 与果蝇 Dif、Dorsal 及 Relish 同源二聚体亲和能力显著强于果蝇本身 I κ B 结构域, 并且可通过抑制果蝇细胞系 *mbn2* 的 Relish 复合体加工过程, 进而调控胞内 IMD 信号转导, 以抑制抗菌肽合成^[18]。

就寄生蜂毒液而言, 在已知携带 IV 的姬蜂中, 毒液对寄主免疫反应几乎不起作用^[3]。但在携带 BV 的茧蜂中, 不同“BV-寄生蜂”系统中雌蜂所携毒液功能存在差异。例如: 在二化螟盘绒茧蜂中毒液虽不能显著影响寄主血细胞存活、延展和包裹作用, 但可抑制血淋巴黑化, 能显著增强毒液 (含 PDV) 在抑制寄主细胞与体液免疫的作用, 且可显著延长作用有效时间^[4]。又如: 中红侧沟茧蜂 *M. mediator* 毒液中含有金属蛋白酶同系物 VRF1, 该毒液蛋白随雌蜂产卵进入寄主血腔, 经水解激活后的活性区

域可进入血细胞, 并经与胞内 Dorsal 互作而抑制寄主细胞免疫^[19]; 该蜂毒液中还有一种新型蛋白 RhoGAP1, 它能进入寄主棉铃虫血细胞, 破坏宿主细胞骨架, 抑制寄主包裹作用; RhoGAP1 可与棉铃虫 RhoA 和 Cdc42 发生互作^[20]。在未携 PDV 的寄生蜂雌蜂中, 毒液通常为关键因子, 随雌蜂产卵注入寄主血腔, 以调控其天然免疫反应, 主要包括: 致死寄主血细胞、抑制血细胞分化与增殖、抑制血细胞延展、吞噬与包裹, 及抑制寄主血淋巴酚氧化酶原激活及抗菌肽合成等^[3]。例如, 菜粉蝶蛹期内寄生蜂蝶蛹金小蜂的毒液可显著抑制寄主血细胞延展与粘附及其对外源异物吞噬与包裹能力, 还可降低寄主血淋巴酚氧化酶原水解激活^[21]。在蝇蛹金小蜂 *Pachycrepoideus vindemiae* 毒液中发现一种隶属钙网蛋白家族的蛋白组分 PvCRT, 利用 USA/Gal4 二元表达系统在黑腹果蝇突变体 *tu(1)S ζ 1* 中异位表达 PvCRT, 可显著降低突变体自包裹表型; 体液免疫研究表明, PvCRT 对黑腹果蝇抗菌肽免疫反应无显著影响^[22]。蝶蛹金小蜂毒液中也有钙网蛋白 PpCRT, 其在抑制寄主菜粉蝶蛹血细胞延展及包裹中起关键作用^[23]。寄生蜂毒液也可参与调控寄主血淋巴黑化反应。例如, 在丽蝇蛹集金小蜂毒液中有一种低分子量丝氨酸蛋白酶抑制因子小肽 NvSPPI, 仅含 80 个氨基酸残基, 其对胰蛋白酶水解活性具有明显抑制作用, 可抑制寄主家蝇蛹血淋巴酚氧化酶原激活水平, 但并不影响已激活的酚氧化酶活性^[3]。超氧化物歧化酶 (SOD) 是一种重要抗氧化应激蛋白, 近年来在多种寄生蜂毒液中被发现。如, 在管氏肿腿蜂 *Scleroderma guani* 毒液中鉴定到两种毒液 SOD, 即 SguaSOD1 和 SguaSOD3, 两者均具有 SOD 酶活性, 能在体外显著抑制寄主血淋巴黑色素形成^[24]。

畸形细胞是另一类较为重要的寄生因子, 系一类特殊的巨大细胞, 其分化自寄生蜂胚胎浆膜。Gao F 等 (2016) 采用 RNA-seq 方法对菜蛾盘绒茧蜂的畸形细胞转录组进行测序分析, 发现其大量转录本具有抑制寄主天然免疫、发育及代谢的潜在功能。其中, 畸形细胞可分泌一种一级结构与寄生蜂毒液蛋白类似的蛋白 TSVP-8, 该蛋白可在体外显著抑制小菜蛾幼虫血淋巴黑化; 畸形细胞中的两个转录本 CvT-def1 和 3, 预测其可能为抗菌肽编码基因, 其重组表达产物具有明显抑菌效果; 缺乏畸形细胞寄主在受到病原微生物攻击后, 其死亡率显著高于含畸形细胞寄主, 说明畸形细胞确实可分泌抗菌

活性物质,以保护寄主免受外源微生物感染^[25]。Ali MR 等(2015)同样采用高通量测序方法对菜蛾盘绒茧蜂畸形细胞转录组进行深度测序,共组装获得 34 686 个 contigs,并完成其注释;发现其转录本构成与寄主血细胞与脂肪体显著不同;对畸形细胞转录本中编码与免疫相关的丝氨酸蛋白酶抑制因子及 RhoGTP 酶激活蛋白的基因家族进行注释,分别获得 11 和 7 个转录本;采用体外培养法,对畸形细胞进行 RNA 干扰,将干扰后畸形细胞注入寄主后,发现上述两大基因家族成员分别参与抑制寄主体液与细胞免疫反应^[26]。

VLP 及雌蜂卵巢蛋白可协助寄生蜂胚胎克服寄主天然免疫反应。仓蛾圆柄姬蜂 *Venturia canescens* 雌蜂生殖系统区的 VLP 附着于蜂胚胎表面,能抑制寄主血细胞对蜂胚胎粘附,协助其克服寄主细胞免疫^[27]。斑痣悬茧蜂雌蜂的毒腺细胞也有 VLP,该当将 VLP 经人为注射入寄主 48 小时后可导致寄主颗粒血细胞凋亡率达到峰值,但不能影响浆血细胞,进而显著削弱寄主血细胞包裹反应^[28]。微红盘绒茧蜂的卵巢蛋白中一个具有主动免疫抑制功能且分子量大小为 32 kDa 的蛋白组分(Crp32),其可附着至胚胎及共生病毒表面,可在蜂胚胎表面形成一层蛋白保护膜,克服寄主细胞免疫反应^[29]。

除主动抑制寄主天然免疫外,寄生蜂还可采用被动策略以逃避寄主免疫攻击。营多胚生殖的腰带长体茧蜂 *Macrocentrus cingulum* 胚胎外膜上存在一种血粘蛋白 hemomucin。采用 RNA 干扰或抗体封闭胚胎表面的方法研究发现,该蛋白可显著抑制寄主细胞免疫反应;经 O-糖苷酶消化后,其抑制寄主血细胞包裹能力显著下降,说明糖链在其行使功能时起关键作用^[30]。寄生蜂雌蜂卵巢蛋白往往在其被动逃避寄主免疫过程中起一定作用。例如,通过转录组与蛋白组学结合分析鉴定发现,二化螟盘绒茧蜂雌蜂卵巢可分泌 817 种卵巢蛋白候选组分,预测 5 种可能参与该蜂被动逃避免疫。其中,离体包裹实验结果表明,与微红盘绒茧蜂 Crp32 同源的二化螟盘绒茧蜂 Crp32B 重组蛋白可显著抑制寄主血细胞包裹作用,且抑制作用存在显著剂量依赖性^[31]。

2.2 调控发育

寄生蜂相关寄生因子在调控寄主害虫天然免疫反应的同时,还行使干扰寄主害虫发育功能,包括改变寄主发育进度、影响寄主变态过程、扰乱寄主体内物质与能量代谢、调节寄主激素及生长因子含量水

平等。通过干扰寄主害虫正常发育过程,为寄生蜂子代在寄主体表或体内取食获取营养以完成发育与繁衍,提供优良的保障条件^[3]。

PDV 可调控寄主发育。黑头异脉茧蜂 *Toxoneuron nigriceps* 的 PDV 可干扰寄主害虫发育。以黑腹果蝇为研究模型,证明该蜂 PDV 上毒性基因 TnBVank 1 表达产物可通过改变寄主前胸腺细胞内吞运输,进而显著削弱寄主蜕皮激素的生物合成;类似研究证明 PDV 的 *ank* 基因家族另一成员 TnBVank 3 基因表达产物也能有效中断寄主黑腹果蝇的蜕皮激素生物合成过程,但其作用机制与 TnBVank 1 完全不同;TnBVank 3 在寄主前胸腺细胞中表达会改变其发育相关基因表达水平,这些基因多集中于 *insulin/TOR* 途径^[32]。同时,有证据表明,TnBVank3 与 TnBVank1 作为两种毒性因子,可协同发挥作用,干扰寄主蜕皮激素合成^[32]。此外,Western blot 和 ELISA 实验发现,该蜂 PDV 抑制寄主蜕皮激素合成的作用靶标很可能是 TOR 途径中 4E-BP 和 S6K 两个靶标的磷酸化。转录组分析发现,寄生 48 小时后,PDV 在寄主烟芽夜蛾 *Heliothis virescens* 前胸腺细胞中选择性表达,并干扰 P13K/Akt/TOR 通路转录水平^[33]。PDV 还可通过“寄生蜂—寄主害虫—植物”三者互作关系调控寄主害虫发育。毁侧沟茧蜂的 PDV 可抑制寄主害虫玉米夜蛾唾液激发子葡萄糖氧化酶生物活性,进而下调针对美洲棉铃虫 *Helicoverpa zea* 取食为害的植物免疫反应。植物防御反应被削弱后,于其上取的玉米夜蛾生长速度加快,从而提升毁侧沟茧蜂寄主适合度。这表明 PDV 在塑造植物与植食性寄主害虫互作关系中起着关键作用^[34]。此外,感染 PDV 后,寄主害虫唾液腺基因表达变化,分泌唾液中的蛋白激发子组分发生变化,导致其为害所诱导的植物挥发物组分发生改变,以改变重寄生蜂(小折唇姬蜂 *Lysibia nana*)对植物挥发物的趋性,进而调控寄生蜂(菜蝶绒茧蜂 *C. glomerata*)后代种群数量^[35]。

同 PDV 类似,毒液亦可调控寄主发育。采用 RNA-seq 方法对经丽蝇蛹集金小蜂毒液处理后的棕尾别麻蝇蛹转录组进行测序,分析其与对照间基因差异表达情况。结果发现仅 2% 基因的转录水平发生变化,这些差异表达基因主要与寄主发育停滞及其神经细胞死亡相关^[36]。采用 RNA-seq 和 iTRAQ 蛋白质组学综合分析法,发现 511 个寄主棉铃虫血淋巴蛋白在经中红侧沟茧蜂寄生后发生差异

表达,其中近 1/7 差异表达蛋白与寄主体内物质代谢密切相关^[37]。经蝶蛹金小蜂毒液处理 12 小时后,菜粉蝶蛹保幼激素 III 滴度显著高于对照,其保幼激素酯酶活性明显低于对照,而其蜕皮激素滴度亦显著低于对照。说明该蜂毒液破坏了寄主内分泌系统^[38]。有关寄生蜂毒液调控寄主害虫物质代谢水平已有一定研究,其中以模式寄生蜂丽蝇蛹集金小蜂与其寄主的研究相对较为系统。代谢组学分析表明,经丽蝇蛹集金小蜂毒液处理后,麻蝇 *Sarcophaga bullata* 体内 249 个代谢物于 5 天内发生动态变化;还发现毒液可显著激活寄主山梨醇生物合成途径,并同时保持寄主葡萄糖代谢稳定;阻断寄主三羧酸循环使寄主由有氧代谢切换至厌氧代谢状态;抑制寄主几丁质生物合成途径进而干扰其发育;显著增加寄主体内多数种类游离氨基酸含量;可能诱导寄主发生磷脂降解反应。同时丽蝇蛹集金小蜂毒液可在不改变寄主葡萄糖水平前提下,提高其山梨醇水平,这预示该模型具有应用于糖尿病研究的潜能^[39]。此外,发现黑胸茧蜂 *Bracon nigricans*^[40]、螟黄足盘绒茧蜂 *C. flavipes*^[41] 的毒液处理或直接寄生也改变寄主代谢,以适应寄生蜂子代发育与营养需求。

除 PDV 和毒液,畸形细胞作为一类重要寄生因子,亦参与寄主发育调控。例如,阿尔蚜茧蜂 *Aphidius ervi* 的畸形细胞可产生并向寄主血腔内释放多种寄生相关蛋白,以确保寄生蜂胚胎及幼虫在寄主体内顺利发育。其中一种为与 C14-C18 饱和脂肪酸、油酸和花生四烯酸具有高亲和力的脂肪酸结合蛋白。该蛋白可将脂肪酸从寄主脂消化部位转运至寄生蜂胚胎或幼虫,这可作为阿尔蚜茧蜂利用寄主营养物质的一条补充途径^[42]。又如,菜蛾盘绒茧蜂的畸形细胞可显著延缓寄主幼虫发育,并干扰幼虫化蛹变态过程;离体注射该畸形细胞培养液,亦可导致相同表型发生,而经高温灭活的培养液则无抑制作用。说明该畸形细胞可分泌具有抑制寄主发育的蛋白组分^[43];该畸形细胞可产生 miRNA,并将其传递至寄主体内,其中 Cve-miR-281-3p 可抑制寄主蜕皮激素受体基因表达,进而抑制寄主小菜蛾幼虫生长发育。该结果首次证明 miRNA 在动物界寄生过程中具有跨物种传递作用,并揭示其在寄生蜂调控寄主生理变化中的作用^[44]。再如,毁侧沟茧蜂的畸形细胞可导致寄主烟芽夜蛾幼虫的发育相关蛋白表达发生变化;它可合成并分泌一种具有富含 Cys 残基蛋白结构域的 14 kDa 蛋白(TSP14),其作

用是显著抑制寄主蛋白质合成、生长与发育^[45]。

3 主要科学问题

我国寄生蜂资源丰富,种类繁多,至今已知的 12 总科 48 科^[46],全国多地亦建有完备的寄生蜂种质资源库,且拥有多种类型“寄生蜂—作物害虫”系统可作为研究对象。同时我国学者已相继完成 11 种寄生蜂基因组测序工作,约占世界已完成总量的 40%。在此基础上,我国在作物害虫与寄生蜂互作研究领域已取得一些成果,如明确了有关寄生蜂寄生因子组成与生理功能等,在国际上拥有一定特色与影响,但仍缺乏系统、深入的研究。为此,有必要继续从现代组学、生理与生物化学、免疫学、细胞生物学、行为学及大数据智能分析等多角度,重点深入研究我国优势寄生蜂与重要作物害虫免疫及发育互作及其内在机理,这将为作物害虫寄生蜂及其衍生物保育与利用技术研发提供理论依据与技术保证。该研究既有利于推动昆虫免疫与发育及害虫生物防治领域新理论、新知识与新方法的发现与创立,也符合国家绿色农业发展急需绿色植保的需求。针对国内外该领域研究现状,本文初步提出现阶段拟解决的主要科学问题:

(1) 作物害虫天然免疫通路解析及其应答机理。针对该问题已有研究报道分析发现有关昆虫天然免疫系统研究过度集中于果蝇等模式昆虫,缺乏对重要作物害虫深度解析,虽然针对模式果蝇免疫系统深入研究,有助于指导作物害虫免疫系统的深度解析,但实质上两种免疫系统间差异十分显著,甚至连其系统主要效应器官血细胞类型及命名均存在差异。

(2) 寄生蜂寄生因子功能及其调控作物害虫免疫机理。有关寄生蜂寄生因子组分发掘及其活性与功能评价体系建立虽已取得一定成果,但仍进展缓慢;所鉴定寄生因子组分多以免疫抑制类为主,而缺乏直接具有显著杀虫效果的活性组分,亦缺乏对寄生蜂寄生因子组分生物安全性评价的相关研究,且目前有关寄生蜂雌蜂毒液因子组分的鉴定目标仍主要指向蛋白/肽等生物大分子,而有关毒液中可能含有的具有活性的小分子化合物组分构成及组分分离鉴定等则鲜见报道;尚未建立可用于寄生相关活性因子组分生物学功能评价的高通量体系,尤其是对未知蛋白/肽等功能评价更是缺乏有效手段;就寄生因子对害虫免疫调控的研究,多还停留于调控作用的生物学表型水平研究,而缺乏对其寄主效应分子

及有关调控互作机理的探究。

(3) 寄生蜂寄生因子与害虫免疫通路间互作及协同演化。有关寄生因子与害虫免疫通路间互作研究的相关报道,亦多见于寄生因子单一组分与害虫免疫单一靶标间互作;而寄生因子类型多,单一因子又含多重组分,组分构成复杂,且害虫免疫反应也较复杂,免疫靶标十分多样,因此,还应多考虑不同类型寄生因子或同一因子不同组分间在行使免疫抑制功能上的协同增效作用;此外,多个寄生因子组分可能作用于同一害虫免疫靶标,亦有可能单个组分对应多个害虫免疫靶标;而有关寄生因子与害虫免疫通路间协同演化方面的研究在国内外更是缺乏探讨。

(4) 寄生因子与害虫发育调控网络互作机理。有关寄生因子及其组分发掘与功能研究,目前仍以调控害虫免疫方面为主,而有关调控害虫发育,尤其与调控发育相关代谢过程有关的研究尚较少;害虫本身的发育调控网络十分复杂,涉及多重重要生理过程,这也成为研究寄生因子与害虫发育互作机理的难点之一,继续深入开展此方面的研究十分必要。

综上所述,建议今后应以科学问题为导向,以项目为驱动,积极推进开展针对此四项主要科学问题的相关基础科学与基础应用研究,以更好地开辟寄生蜂作为重要生物防治资源利用的新理论与新方法,充分发挥其在作物害虫绿色防控体系中的有效作用。

4 面临的机遇与挑战

针对上述有关寄生蜂与作物害虫免疫与发育互作的研究现状,及经初步探讨所提出的四大主要科学问题,我们认为目前该研究领域正面临着难得机遇与巨大挑战。就基础研究而言,如何充分利用现代组学、生理与生物化学、分子生物学及细胞生物学等研究方法,基因编辑及转基因技术、生物大分子质谱鉴定等现代技术,去深度解析非模式作物害虫天然免疫反应网络,鉴定寄生蜂不同类型寄生因子中组分构成,研究不同因子不同组分与害虫生理靶标(免疫与发育等)间互作机理,揭示不同寄生因子及其与害虫免疫通路间协同演化规律,是值得深入思考与探索研究的。就应用研究而言,寄生蜂及其衍生品的工厂化扩繁及其保育利用仍是作物害虫绿色防控体系中的重要短板,寄生蜂寄生因子的转化与利用技术仍不成熟。下一阶段,是否可以利用农业产业精准化、数字化与智能化升级之契机,提升寄生

蜂及其衍生物的大规模、高品质、商业化繁育,建立繁育与田间应用标准,创制种类更为繁多的活体寄生蜂及其衍生产品,延长产品货架期,优化寄生蜂定殖并实施其精准释放;另一方面,是否可以通过基因工程技术,利用寄生蜂寄生因子研制新型抗虫基因工程作物或新型基因工程微生物杀虫制剂;是否可以利用基因编辑等技术对寄生蜂及其寄主进行改良,以提升其繁育、寄生控害能力,延长其寿命,增强活体寄生蜂所携寄生因子活性,提高其害虫控制效率。概而言之,针对寄生蜂寄生因子及其与作物害虫免疫与发育互作的深入研究,不仅可以提升昆虫免疫与发育生物学、害虫生物防治等学科领域的理论认识,而且有望将寄生因子部分组分应用于农业、医学及药学等前瞻领域,前景广阔。

参 考 文 献

- [1] Asgari S, Rivers DB. Venom proteins from endoparasitoid wasps and their role in host-parasite interactions. *Annual Review of Entomology*, 2011, 56: 313—335.
- [2] Moreau SJM, Asgari S. Venom proteins from parasitoid wasps and their biological functions. *Toxins*, 2015, 7(7): 2385—2412.
- [3] 叶恭银, 胡建, 朱家颖, 等. 寄生蜂调控寄主害虫免疫与发育机理的研究新进展. *应用昆虫学报*, 2019, 56(3): 382—400.
- [4] Teng ZW, Xu G, Gan SY, et al. Effects of the endoparasitoid *Cotesia chilonis* (Hymenoptera: Braconidae) parasitism, venom, and calyx fluid on cellular and humoral immunity of its host *Chilo suppressalis* (Lepidoptera: Crambidae) larvae. *Journal of Insect Physiology*, 2016, 85: 46—56.
- [5] Burke GR, Strand MR. Systematic analysis of a wasp parasitism arsenal. *Molecular Ecology*, 2014, 23(4): 890—901.
- [6] Abram PK, Brodeur J, Urbaneja A, et al. Nonreproductive effects of insect parasitoids on their hosts. *Annual Review of Entomology*, 2019, 64: 259—276.
- [7] Wang F, Fang Q, Wang B, et al. A novel negative-stranded RNA virus mediates sex ratio in its parasitoid host. *PLoS Pathogens*, 2017, 13(3): e1006201.
- [8] 严智超, 叶昕海, 王蓓蓓, 等. 寄生蜂毒液蛋白组成、功能及进化的研究进展. *中国生物防治学报*, 2017, 33(1): 1—10.
- [9] Yan ZC, Fang Q, Wang L, et al. Insights into the venom composition and evolution of an endoparasitoid wasp by combining proteomic and transcriptomic analyses. *Scientific Reports*, 2016, 6: 19604.
- [10] Yang L, Yang Y, Liu MM, et al. Identification and comparative analysis of venom proteins in a pupal ectoparasitoid, *Pachycrepoides vindemmiae*. *Frontiers in Physiology*, 2020, 11: 9.

- [11] Martinson EO, Mrinalini, Kelkar YD, et al. The evaluation of venom by co-option of single copy genes. *Current Biology*, 2017, 27(13): 2007—2013. e8.
- [12] Ye XQ, Shi M, Huang JH, et al. Parasitoid polydnaviruses and immune interaction with secondary hosts. *Developmental and Comparative Immunology*, 2018, 83 (SD): 124—129.
- [13] Burke GR, Simmonds TJ, Sharanowski BJ, et al. Rapid viral symbiogenesis via changes in parasitoid wasp genome architecture. *Molecular Biology and Evolution*, 2018, 35 (10): 2463—2474.
- [14] Tian HY, Hu Y, Zhang P, et al. *Spodoptera litura* cyclophilin is required for microplitis bicoloratus bracovirus-induced apoptosis during insect cellular immune response. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 2019, 100 (3): e21534.
- [15] Beck M, Strand MR. Glc1. 8 from *Microplitis demolitor* bracovirus induces a loss of adhesion and phagocytosis in insect high five and S2 cells. *Journal of Virology*, 2005, 79 (3): 1861—1870.
- [16] Glatz R, Schmidt O, Asgari S. Characterization of a novel protein with homology to C-type lectins expressed by the *Cotesia rubecula* bracovirus in larvae of the lepidopteran host, *Pieris rapae*. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(22): 19743—19750.
- [17] Beck MH, Strand MR. A novel polydnavirus protein inhibits the insect prophenoloxidase activation pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(49): 19267—19272.
- [18] Bitra K, Suderman RJ, Strand MR. Polydnavirus ank proteins bind NF-Kb homodimers and inhibit processing of Relish. *PLoS Pathogens*, 2012, 8(5): e1002722.
- [19] Du J, Lin Z, Volovych O, et al. A RhoGAP venom protein from *Microplitis mediator* suppresses the cellular response of its host *Helicoverpa armigera*. *Developmental and Comparative Immunology*, 2020, 108: 103675.
- [20] Fang Q, Wang L, Zhu JY, et al. Expression of immune-response genes in lepidopteran host is suppressed by venom from an endoparasitoid, *Pteromalus puparum*. *BMC Genomics*, 2010, 11: 484.
- [21] Lin Z, Cheng Y, Wang RJ, et al. A metalloprotease homolog venom protein from a parasitoid wasp suppresses the toll pathway in host hemocytes. *Frontiers in Immunology*, 2018, 9: 2301.
- [22] Yang L, Wang BB, Qiu LM, et al. Functional characterization of a venom protein calreticulin in the ectoparasitoid *Pachycrepoideus vindemiae*. *Insects*, 2019, 11(1): 29.
- [23] Wang L, Fang Q, Qian C, et al. Inhibition of host cell encapsulation through inhibiting immune gene expression by the parasitic wasp venom calreticulin. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2013, 43(10): 936—946.
- [24] Liu NY, Huang JM, Ren XM, et al. Superoxide dismutase from venom of the ectoparasitoid *Scleroderma guani* inhibits melanization of hemolymph. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 2018, 99(3): e21503.
- [25] Gao F, Gu QJ, Pan J, et al. *Cotesia vestalis* teratocytes express a diversity of genes and exhibit novel immune functions in parasitism. *Scientific Reports*, 2016, 6: 26967.
- [26] Ali MR, Lim J, Kim Y. Transcriptome of a specialized extra-embryonic cell, teratocyte, and its host immunosuppressive role revealed by ex vivo RNA interference. *Insect Molecular Biology*, 2015, 24 (1): 13—28.
- [27] Schmidt O, Theopold U, Strand M. Innate immunity and its evasion and suppression by hymenopteran endoparasitoids. *Bioessays*, 2001, 23(4): 344—351.
- [28] Suzuki M, Tanaka T. Virus-like particles in venom of *Meteorus pulchricornis* induce host hemocyte apoptosis. *Journal of Insect Physiology*, 2006, 52(6): 602—613.
- [29] Asgari S, Theopold U, Wellby C, et al. A protein with protective properties against the cellular defense reactions in insects. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1998, 95(7): 3690—3695.
- [30] Hu J, Xu QY, Hu SF, et al. Hemomucin, an O-glycosylated protein on embryos of the wasp *Macrocentrus cingulum* that protects it against encapsulation by hemocytes of the host *Ostrinia furnacalis*. *Journal of Innate Immunity*, 2014, 6(5): 663—675.
- [31] Teng ZW, Wu HZ, Ye XH, et al. An ovarian protein involved in passive avoidance of an endoparasitoid to evade its host immune response. *Journal of Proteome Research*, 2019, 18(7): 2695—2705.
- [32] Ignesti M, Ferrara R, Romani P, et al. A polydnavirus-encoded ANK protein has a negative impact on steroidogenesis and development. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2018, 95: 26—32.
- [33] Salvia R, Nardiello M, Scieuzo C, et al. Novel factors of viral origin inhibit TOR pathway gene expression. *Frontiers in Physiology*, 2018, 9: 1678.
- [34] Tan CW, Peiffer M, Hoover K, et al. Symbiotic polydnavirus of a parasite manipulates caterpillar and plant immunity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115 (20): 5199—5204.
- [35] Zhu F, Cusumano A, Bloem J, et al. Symbiotic polydnavirus and venom reveal parasitoid to its hyperparasitoids. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(20): 5205—5210.
- [36] Martinson EO, Wheeler D, Wright J, et al. *Nasonia vitripennis* venom causes targeted gene expression changes in its fly host. *Molecular Ecology*, 2014, 23 (23): 5918—5930.

- [37] Lin Z, Wang RJ, Cheng Y, et al. Insights into the venom protein components of *Microplitis mediator*, an endoparasitoid wasp. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2019, 105: 33—42.
- [38] Zhu JY, Ye GY, Dong SZ, et al. Venom of *Pteromalus puparum* (Hymenoptera: Pteromalidae) induced endocrine changes in the hemolymph of its host, *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 2009, 71(1): 45—53.
- [39] Mrinalini, Siebert AL, Wright J, et al. Parasitoid venom induces metabolic cascades in fly hosts. *Metabolomics*, 2015, 11(2): 350—366.
- [40] Becchimanzi A, Avolio M, Di Lelio I, et al. Host regulation by the ectophagous parasitoid wasp *Bracon nigricans*. *Journal of Insect Physiology*, 2017, 101: 73—81.
- [41] Rossi GD, Salvador G, Cònsoli FL. The parasitoid, *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae), influences food consumption and utilization by larval *Diatraea saccharalis* (F.) (Lepidoptera: Crambidae). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 2014, 87(2): 85—94.
- [42] Caccia S, Grimaldi A, Casartelli M, et al. Functional analysis of a fatty acid binding protein produced by *Aphidius ervi* erocytes. *Journal of Insect Physiology*, 2005, 58(5): 621—627.
- [43] Ali MR, Seo J, Lee D, et al. Teratocyte-secreting proteins of an endoparasitoid wasp, *Cotesia plutellae*, prevent host metamorphosis by altering endocrine signals. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A Molecular and Integrative Physiology*, 2013, 166(2): 251—262.
- [44] Wang ZZ, Ye XQ, Shi M, et al. Parasitic insect-derived miRNAs modulate host development. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 2205.
- [45] Dahlman DL, Rana RL, Schepers EJ, et al. A teratocyte gene from a parasitic wasp that is associated with inhibition of insect growth and development inhibits host protein synthesis. *Insect Molecular Biology*, 2003, 12 (5): 527—534.
- [46] Chen XX, Tang P, Zeng J, et al. Taxonomy of parasitoid wasps in China: an overview. *Biological Control*, 2014, 68: 57—72.

Interactions between Parasitoid Wasps and Their Host Pestimmunity and Development: Discussion of Research Hotspots and Major Scientific Issues

Ye Gongyin* Fang Qi

Zhejiang University, State Key Laboratory of Rice Biology/Ministry of Agriculture and Rural Affairs Key Laboratory of Molecular Biology of Crop Pathogens and Insects/Key Laboratory of Biology of Crop Pathogens and Insects of Zhejiang Province/Institute of Insect Sciences, Hangzhou 310058

Abstract Parasitoid wasps are the most important parasitically natural enemies. They play many key roles in integrated pest management. Many researches are recently reported, regarding to the interactions between parasitoid wasps and host immunity and development. This research area also gradually becomes a hot spot in investigation on biological control of insect pests. In this review, we first generally conclude the types and diversity of parasitism factors, from the parasitoid wasps. Next, we present the recent hotspots in researches on the interactions between parasitism factors and pest immunity and development, following with the preliminary discussion of the major scientific issues relating to this research area. Finally, we make a point for the opportunities and challenges in this filed. These four major scientific issues may be mainly focused. They include (1) response mechanisms and pathways of pest innate immunity; (2) functions of the parasitism factors and their regulatory mechanism on the pest immunity; (3) interactions and co-evolutions between parasitism factors and immunity pathways of the pests; (4) mechanisms of interactions between parasitism factors and regulatory networks of pest development.

Keywords parasitoid wasps; parasitism factors; host; immunity; development

(责任编辑 张强 吴妹)

* Corresponding Author, Email: chu@zju.edu.cn