

张海玲, 张玉波, 周正湘. 核型多角体病毒对烟青虫血淋巴的影响[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(4): 788-793.

doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2017.04.010

核型多角体病毒对烟青虫血淋巴的影响

张海玲, 张玉波, 周正湘

(安顺学院/贵州昆虫信息系统与资源利用开发重点实验室, 贵州 安顺 561000)

摘要: 为研究烟青虫核型多角体病毒(HeasNPV)侵染所引发的免疫机理, 本试验以浓度 10^5 PIB/ μ l、 10^6 PIB/ μ l 和 10^7 PIB/ μ l HeasNPV 侵染 5 龄幼虫, 分别测定了处理后烟青虫幼虫血淋巴中血细胞总量、浆血细胞和颗粒细胞的数量、酚氧化酶(PO)的活性以及血淋巴的体外黑化率, 同时还用显微镜观察了 HeasNPV 侵染血细胞的过程。结果显示: 与对照组相比, 10^6 PIB/ μ l 和 10^7 PIB/ μ l 的 HeasNPV 溶液处理导致 5 龄幼虫血淋巴中血细胞总量、浆血细胞和颗粒细胞的数量显著上升 ($P < 0.05$), 并且在感毒后 3 d 达到峰值。 10^5 PIB/ μ l 的 HeasNPV 溶液处理后, 烟青虫 5 龄幼虫血淋巴中血细胞总量、浆血细胞和颗粒细胞的数量呈缓慢上升趋势。 10^6 PIB/ μ l 的 HeasNPV 溶液处理的 5 龄幼虫的 PO 活性先增长后下降。在连续观察的 5 d 内, 对照组幼虫血淋巴体外黑化率始终为 100%, 而处理组幼虫血淋巴体外黑化率呈下降趋势。以上结果说明, 烟青虫幼虫血淋巴中的细胞免疫和体液免疫在 HeasNPV 侵染防御中发挥了重要作用, 幼虫感染病毒后通过血细胞数量的增加和 PO 活性的升高来清除外来病原体。

关键词: 烟青虫核型多角体病毒; 烟青虫; 血淋巴; 酚氧化酶

中图分类号: S435.72 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2017)04-0788-06

Hemolymph of *Heliothis assulta* infected by *Heliothis assulta* nucleopolyhedrovirus

ZHANG Hai-ling, ZHANG Yu-bo, ZHOU Zheng-xiang

(Key Laboratory of Guizhou Insect Information System and Resource Utilization Development, Anshun University, Anshun 561000, China)

Abstract: The immune mechanism of the *Heliothis assulta* larvae infected with *Heliothis assulta* nucleopolyhedrovirus(HeasNPV) was studied through measuring the number of total hemocytes, plasmatocytes and granular hemocytes in the 5th instar larvae of *H. assulta* exposed to 10^5 PIB/ μ l, 10^6 PIB/ μ l and 10^7 PIB/ μ l HeasNPV, respectively, and the activity of phenol oxidase(PO) and melanization rate of hemolymph. The number of total hemocytes, plasmatocytes and granular hemocytes and the activity of PO increased in the 5th instar larvae of *H. assulta* infected with 10^6 PIB/ μ l and 10^7 PIB/ μ l HeasNPV ($P < 0.05$), and peaked at the 3rd day. However, the number of total hemocytes, plasmatocytes and granular hemocytes and the activity of PO rised slowly in the 5th instar larvae of *H. assulta* infected with 10^5 PIB/ μ l HeasNPV. The *in vitro* black rate of hemolymph of larvae in the control group stayed 100% within five days of treatment, while the black rate in the infected group presented a downward trend. A conclusion can be drawn that cellular immunity and humoral immunity

of hemolymph play important roles in the defense of *H. assulta* larvae against HeasNPV infection, and the foreign pathogens were eliminated through the increases of the number of hemocytes and the activity of PO.

Key words: *Heliothis assulta* nucleopolyhedrovirus (HeasNPV); *Heliothis assulta*; hemolymph; phenol oxidase(PO)

收稿日期: 2017-02-22

基金项目: 贵州省科技厅基金项目[黔科合 J 字 LKA(2013)02 号]; 贵州省教育厅基金项目[黔教合 KY 字(2014)271、黔教合人才团队字(2015)71]

作者简介: 张海玲(1984-), 女, 河北衡水人, 硕士, 讲师, 主要研究昆虫发育与免疫。(E-mail)1152909453@qq.com

烟青虫 (*Heliothis assulta*), 属鳞翅目夜蛾科, 是烟田中的主要害虫, 对烟叶的产量和质量造成了极大的影响, 除危害烟草外, 烟青虫还危害辣椒、棉花、玉米、番茄等经济作物^[1-2]。烟青虫核型多角体病毒 (*Heliothis assulta* nucleopolyhedrovirus, HeasNPV) 是烟青虫自然种群密度的重要调节因子, 对烟青虫幼虫具有较高的感染力, 是一种应用前景较好的病毒杀虫剂^[3-4]。昆虫在长期的进化过程中发展形成了一套独特的血淋巴免疫系统, 包括细胞免疫和体液免疫。血细胞执行的细胞免疫主要表现为包裹、吞噬及黑化反应, 与体液免疫调节因子酚氧化酶、抗菌肽、血浆蛋白酶等共同作用发挥免疫机制^[5-6]。而鳞翅目昆虫的血细胞主要分为原血细胞、浆血细胞、颗粒细胞、类绛色细胞和珠血细胞 5 种类型。其中浆血细胞和颗粒细胞是昆虫的主要免疫细胞^[7]。黑化现象^[8-10]则是由于昆虫体液免疫反应中的酚氧化酶 (PO) 催化酪氨酸形成多巴, 并将多巴氧化为醌, 最终形成黑色素造成的。昆虫机体往往通过黑化作用清除外来病原体。目前, 关于昆虫感染核型多角体病毒 (NPV) 之后的血淋巴免疫应激反应在玉米螟、斜纹夜蛾、棉铃虫等昆虫中报道较多^[11-13], 如, 亚洲玉米螟幼虫受大肠杆菌侵染 12 h 后, 其血清中的谷胱甘肽过氧化物酶、谷胱甘肽还原酶、谷胱甘肽-S-转移酶的活性明显升高, 以清除体内过多的活性氧自由基, 防止其毒害。而有关烟青虫感染 NPV 之后的血淋巴变化尚不清楚。本试验研究感染核型多角体病毒 (HeasNPV) 的烟青虫血细胞数量、酚氧化酶活性及黑化现象, 旨在探究病毒感染靶标昆虫的免疫机制。

1 材料与方法

1.1 供试材料

烟青虫核型多角体病毒 (HeasNPV) 采自安顺宁谷烟草田中感病的烟青虫幼虫, 并在室内增殖 2 次后所得。将感病的烟青虫幼虫死尸进行匀浆, 然后将粗提液差速离心并稀释至试验浓度。

采自同一烟草田的健康幼虫在室内按照董钧锋等^[14]的方法采用人工饲料进行传代饲养。供试幼虫选择传代 2 次、刚刚蜕皮的、生长状况一致的 5 龄幼虫。处理组分别喂食浓度为 10^5 PIB/ μ l、 10^6 PIB/ μ l 和 10^7 PIB/ μ l 的病毒溶液 100 μ l (分别为处理 1、处理 2 和处理 3) 及与病毒溶液等体积的人工

饲料, 对照组喂食等量的未做任何处理的人工饲料。试验幼虫置于人工气候培养箱内饲养, 温度 (26 ± 1) $^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 80%~85%, 光周期 $L/D = 14 \text{ h}/10 \text{ h}$ 。在处理之前, 先让试验幼虫处于饥饿状态 8 h, 以保证幼虫将所有饲料吃完。

1.2 试验设计

该试验设置为 5 龄烟青虫幼虫感毒后 1 d、2 d、3 d、4 d、5 d 共 5 个不同时间处理, 每个处理 20 只幼虫, 每个处理重复 3 次。分别观察幼虫感毒后不同时间的血细胞总量变化及颗粒细胞、浆血细胞的数量变化, 以及幼虫血淋巴黑化的情况和血淋巴中酚氧化酶的活性变化。对照组为生长状况一致、同等数量的同龄期的健康幼虫。

1.3 血淋巴的收集

取试验幼虫用清水冲洗 2~3 次, 并用酒精棉擦拭其身体表面消毒, 然后将其置于冰上冷冻, 再用消过毒的剪刀将其腹足剪破, 用毛细管收集流出的血淋巴, 并转移至带有抗凝剂的冷冻的离心管中, 在 4 $^{\circ}\text{C}$ 、1 000 r/min 下离心 10 min, 取上清液作为血清, 置于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用。

1.4 血细胞的计数

分别采集感毒后 1 d、2 d、3 d、4 d、5 d 处理组和对照组的 5 龄烟青虫幼虫的血淋巴。采用血细胞计数板对血细胞计数。在清洁的血细胞计数板上加一盖玻片, 吸取 20 μ l 血细胞悬液滴加在盖片边缘, 使悬液充满盖片和计数板之间, 多余的液体用吸水纸吸出。然后放在 OLYMPUS BX51 型显微镜下开始计数。数据结果为 3 次重复的平均值。

1.5 HeasNPV 侵染血细胞的过程观察

取感毒浓度为 10^6 PIB/ μ l 的幼虫血淋巴制成装片, 置于 OLYMPUS BX51 型显微镜下观察其血细胞的形态变化。

1.6 蛋白质浓度的测定

血清中蛋白质浓度的测定采用 Bradford^[15]的方法。以牛血清白蛋白 (BSA) 制备蛋白浓度标准曲线。然后根据标准曲线计算样品浓度。

1.7 酚氧化酶活性的测定

参照冯从经等^[16]的方法, 分别取 50 μ l 感毒浓度为 10^6 PIB/ μ l 不同时间处理的血清及 40 μ l 0.1 mol/L 氯代十六烷基吡啶 (CPC) 于比色杯中混匀, 30 $^{\circ}\text{C}$ 下温育 10 min, 再加入 50 μ l 0.02 mol/L L-3, 4 二羟基苯丙氨酸 (L-DOPA) 作为底物继续温育 1 min, 加入

CAC(二甲胍酸钠)缓冲液至总体积 3.0 ml,测定 490 nm 处 1 min 内吸光值的增大值。以每毫克蛋白吸光值增大 0.001 为 1 个酶单位,并设置空白管、样本管,重复 3 次,计算酚氧化酶的活性。

1.8 血淋巴的体外黑化反应观察

参照冯从经等^[16]的方法,将未稀释并加入二苯氨基脲的感毒浓度为 10^6 PIB/ μ l 的烟青虫幼虫血淋巴滴在 Parafilm 膜上,在室温下放置 20 min,观察血淋巴颜色的变化。当颜色由淡乳白色变为黑褐色记为正常黑化,而仍保持原来颜色的记为黑化反应被抑制。每组观察 20 只存活幼虫血淋巴的黑化情况,并计算黑化率。处理组和对照组各重复 3 次。

1.9 数据处理

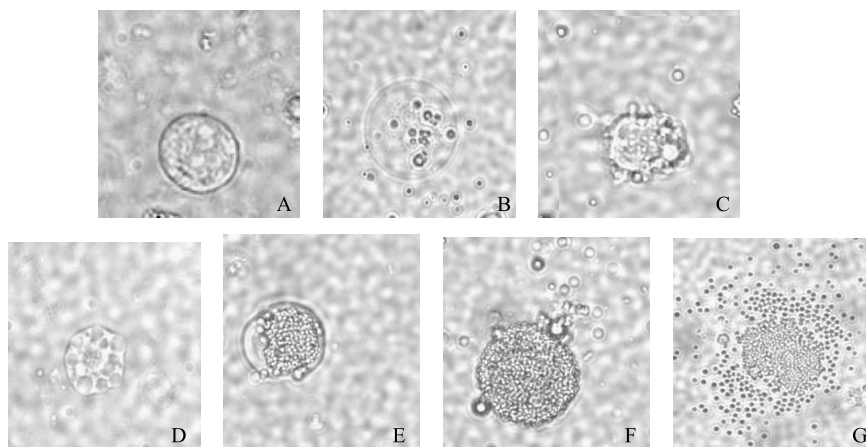
利用 Excel 计算每个处理组烟青虫幼虫血淋巴

的体外黑化率及其酚氧化酶的活性,采用 SPSS16.0 软件对试验数据进行分析处理。

2 结果与分析

2.1 HeasNPV 侵染烟青虫幼虫血细胞的过程

当烟青虫幼虫感染 10^6 PIB/ μ l HeasNPV 后 1 d,其血细胞形态完整,轮廓清晰,细胞内容物完好(图 1A);感毒后 2 d,少量病毒粒子开始吸附在血细胞表面并慢慢侵染细胞内,同时伴有细胞变形、内容物严重受损和细胞空泡化现象(图 1B、图 1C、图 1D);感毒后 3 d,病毒粒子已开始大量繁殖,并占据了整个细胞(图 1E、图 1F);感毒后 4~5 d,血细胞膜破裂,大量的病毒粒子释放,接着又侵染其他的血细胞(图 1G)。



A 表示感染病毒后 1 d;B、C、D 表示感染病毒后 2 d;E、F 表示感染病毒后 3 d;G 表示感染病毒后 4~5 d。

图 1 HeasNPV 侵染烟青虫 5 龄幼虫血细胞的过程

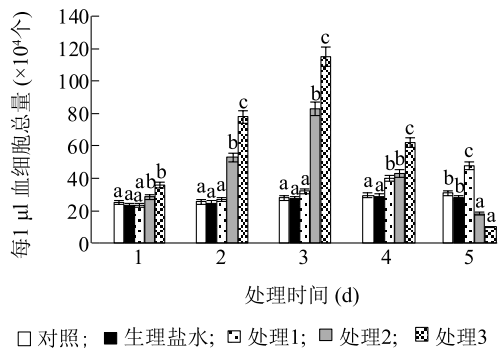
Fig.1 The progress of HeasNPV infecting hemocytes of the 5th instar larvae of *Heliothis assulta*

2.2 HeasNPV 对烟青虫幼虫血细胞数量的影响

从图 2 可以看出,试验幼虫在感染 10^6 PIB/ μ l (处理 2) 和 10^7 PIB/ μ l (处理 3) HeasNPV 1 d、2 d、3 d 后,其血细胞总量与对照组相比差异达显著水平 ($P < 0.05$),并且试验幼虫的血细胞总量从感毒后 1 d 到感毒后 3 d 呈上升趋势,在感毒后 3 d 达至峰值,分别为每 1 μ l 血液中含血细胞 83×10^4 个和 115×10^4 个,在 5 d 后血细胞总量显著下降 ($P < 0.05$),其中感染 10^6 PIB/ μ l HeasNPV 的处理组为对照组的 58%,而感染 10^7 PIB/ μ l HeasNPV 的处理组仅为对照组的 32%。感染 10^5 PIB/ μ l HeasNPV (处理 1) 的试验幼虫的血细胞总量在感毒 1~3 d 时

并无明显变化,在 5 d 时显著升高,达到每 1 μ l 血液 48×10^4 个细胞,约为对照组的 1.5 倍。可见,HeasNPV 处理浓度越高,试验幼虫的血细胞总量受到的影响越大。

感染不同浓度的 HeasNPV 时,试验幼虫的浆血细胞和颗粒细胞的数量也有明显变化(图 3、图 4)。感染 10^6 PIB/ μ l (处理 2) 和 10^7 PIB/ μ l (处理 3) HeasNPV 的试验幼虫的浆血细胞和颗粒细胞的数量都在感毒后 3 d 达到最高值,其中,感染 10^6 PIB/ μ l HeasNPV 的试验幼虫的浆血细胞和颗粒细胞分别为每 1 μ l 血液 28×10^4 个细胞和每 1 μ l 血液 30×10^4 个细胞,而感染 10^7 PIB/ μ l HeasNPV 的试验



对照:喂食 100 μl 未做任何处理的人工饲料;生理盐水:喂食 100 μl 生理盐水和等体积的人工饲料;处理 1、处理 2 和处理 3 分别喂食浓度为 10^5 PIB/ μl 、 10^6 PIB/ μl 和 10^7 PIB/ μl 的病毒溶液 100 μl 和等体积的人工饲料。图中不同小写字母表示差异达显著水平 ($P < 0.05$)。

图 2 不同浓度 HeasNPV 对烟青虫 5 龄幼虫血细胞总量的影响
Fig.2 Effect of different concentrations of HeasNPV on the total number of hemocytes in the 5th instar larvae of *H. assulta*

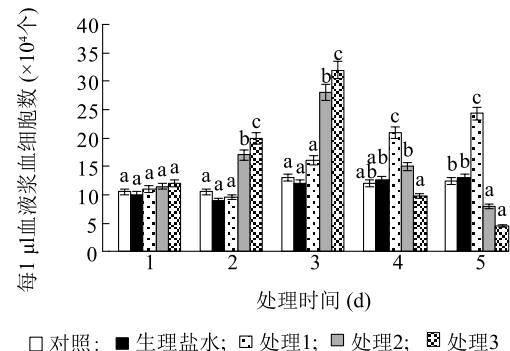
幼虫的浆血细胞和颗粒细胞分别为每 1 μl 血液 32×10^4 个细胞和每 1 μl 血液 38×10^4 个细胞。感染 10^5 PIB/ μl HeasNPV (处理 1) 的试验幼虫的浆血细胞和颗粒细胞数量都缓慢上升,颗粒细胞在感毒后 1 d 最低,为每 1 μl 血液 9.2×10^4 个细胞,而浆血细胞在感毒后 2 d 最低,为每 1 μl 血液 9.6×10^4 个细胞。说明浆血细胞和颗粒细胞作为烟青虫幼虫的主要免疫细胞,当试验幼虫的感毒浓度越高时,其数量变化越快,并且在一定时期内,通过其数量的增加来抵御外来病原物的入侵。

2.3 HeasNPV 对烟青虫幼虫血淋巴体外黑化的影响

从图 5 可知,健康的烟青虫幼虫血淋巴体外黑化率始终为 100%,而感毒的烟青虫幼虫随着感毒时间的延长和日龄的增长,其血淋巴体外黑化率逐渐下降,在感毒后 5 d 黑化率下降至最低。说明核型多角体病毒抑制了烟青虫幼虫血淋巴黑色素的产生,使其更易于在宿主体内生存并大量繁殖。

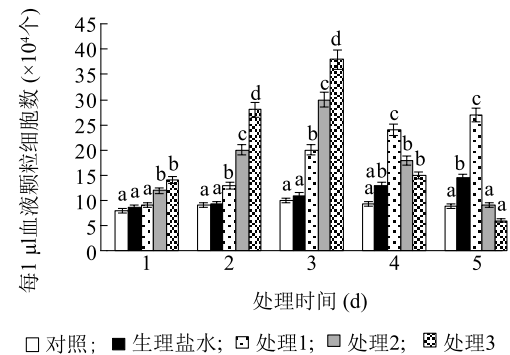
2.4 HeasNPV 对烟青虫幼虫血淋巴酚氧化酶活性的影响

由表 1 可知,在连续观察的 5 d 内,健康幼虫血淋巴酚氧化酶的活性缓慢上升,但差异不显著 ($P > 0.05$),而感毒幼虫的血淋巴酚氧化酶活性呈现先



对照:喂食 100 μl 未做任何处理的人工饲料;生理盐水:喂食 100 μl 生理盐水和等体积的人工饲料;处理 1、处理 2 和处理 3 分别喂食浓度为 10^5 PIB/ μl 、 10^6 PIB/ μl 和 10^7 PIB/ μl 的病毒溶液 100 μl 和等体积的人工饲料。图中不同小写字母表示差异达显著水平 ($P < 0.05$)。

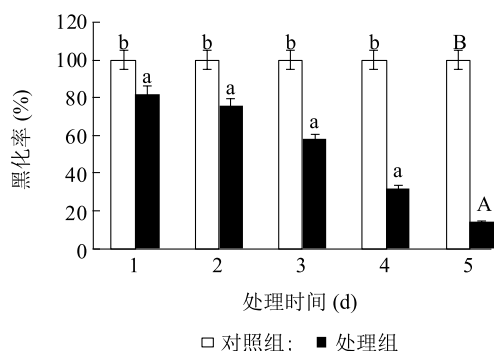
图 3 不同浓度 HeasNPV 对烟青虫 5 龄幼虫浆血细胞数量的影响
Fig.3 Effect of different concentrations of HeasNPV on the number of plasmatocytes in the 5th instar larvae of *H. assulta*



对照:喂食 100 μl 未做任何处理的人工饲料;生理盐水:喂食 100 μl 生理盐水和等体积的人工饲料;处理 1、处理 2 和处理 3 分别喂食浓度为 10^5 PIB/ μl 、 10^6 PIB/ μl 和 10^7 PIB/ μl 的病毒溶液 100 μl 和等体积的人工饲料。图中不同小写字母表示差异达显著水平 ($P < 0.05$)。

图 4 不同浓度 HeasNPV 对烟青虫 5 龄幼虫颗粒细胞数量的影响
Fig.4 Effect of different concentrations of HeasNPV on the number of granular hemocytes in the 5th instar larvae of *H. assulta*

增长后降低的趋势。在感毒后 1 d,其血淋巴酚氧化酶活性开始逐渐增加,并在感毒后 2~3 d 与对照组的差异达到显著水平 ($P < 0.05$),在感毒后 3 d 达到峰值,为 18.26 U/mg,是对照组的 2.14 倍。感毒 3 d 后,其血淋巴酚氧化酶活性呈下降趋势。



对照:喂食 100 μl 未做任何处理的人工饲料;处理组:喂食浓度为 10^6 PIB/ μl 的病毒溶液 100 μl 和等体积的人工饲料。图中不同小写字母表示差异达显著水平 ($P < 0.05$), 不同大写字母表示差异达极显著水平 ($P < 0.01$)。

图 5 HeasNPV 对烟青虫 5 龄幼虫血淋巴黑化率的影响

Fig.5 Effect of HeasNPV on melanization rate of hemolymph of the 5th instar larvae of *H. assulta*

表 1 HeasNPV 对烟青虫 5 龄幼虫血淋巴酚氧化酶活性的影响

Table 1 Effect of HeasNPV on the activity of *PO* in the hemolymph of the 5th instar larvae of *H. assulta*

处理时间 (d)	血淋巴酚氧化酶活性 (U/mg)	
	健康幼虫	感毒幼虫
1	3.86±0.23a	4.52±0.45a
2	5.34±0.35a	9.89±0.32b
3	8.55±0.28a	18.26±0.21b
4	11.59±0.34a	12.67±0.53a
5	13.27±0.42a	8.45±0.37b

3 讨论

昆虫血淋巴是昆虫受到外界病原体感染时发挥免疫防御的主要防线之一,在昆虫免疫系统中占有重要地位。据研究报道,昆虫在受到外界病原体刺激时,其血细胞数量也会发生明显变化。晓帆等^[17]将病原线虫注入大蜡螟幼虫的血腔内,结果发现,在处理 12 h 幼虫的血淋巴总量比对照组上升了 8.03%~19.08%,同时,血细胞总数也达到了高峰。本试验结果显示烟青虫幼虫在感染浓度为 10^6 PIB/ μl 和 10^7 PIB/ μl 的病毒时,其血细胞总量及浆血细胞和颗粒细胞的数量都是先上升后下降。这一结果与季香云等^[12]的研究结论相似。分析原因可能是因为 HeasNPV 的入侵刺激了烟青虫幼虫的免疫系统,在细胞免疫方面呈现出血细胞数量的增多,

而浆血细胞和颗粒细胞作为鳞翅目昆虫的两大类主要免疫细胞,数量也大大增加。随着 HeasNPV 感染宿主时间的延长,病毒粒子大量繁殖,所消耗的血细胞已远远超过幼虫体内所释放的血细胞数量,所以血细胞又呈现出下降的趋势。感染浓度为 10^5 PIB/ μl 病毒的烟青虫幼虫在连续观察的 5 d 内,其血细胞总量及浆血细胞和颗粒细胞的数量都呈现出缓慢上升的趋势,可能是由于病毒数量有限所消耗的血细胞数量也有限,随着病毒粒子的缓慢扩增,昆虫血细胞数量也缓慢上升。

酚氧化酶(*PO*)是昆虫体内一类重要的氧化酶,在昆虫的正常生长发育及免疫防御中发挥着重要的生理机制。张道伟等^[18]利用同源克隆的方法在体外获得德国小蠊酚氧化酶基因(*BgPO*) cDNA 的全长,并在血淋巴和表皮中成功表达,经大肠杆菌诱导后发现 *BgPO* 的表达量在诱导后 24 h 开始升高,并在 36 h 达到峰值。在本试验过程中发现,健康幼虫的血淋巴体外黑化率在连续观察的 5 d 内始终为 100%,而感毒幼虫的血淋巴体外黑化率呈下降趋势,说明 HeasNPV 的入侵抑制了幼虫体内黑色素的产生。这与冯从经等^[16]、季香云等^[12]的研究结果一致,可能是因为研究者所采用的试验昆虫都属于鳞翅目夜蛾科类,所以才出现了同样的免疫反应。那么,感毒幼虫的血淋巴黑化率降低是否与 *PO* 的活性变化有直接关系呢?尹丽红等^[19]发现棉铃虫被齿唇姬蜂寄生后,其血淋巴的体外黑化率显著下降,酚氧化酶的活性被抑制,且寄生 48 h 后,血浆中酚氧化酶的活性降低约 83%。在本试验中发现,感毒幼虫血淋巴的 *PO* 活性呈现出先上升后下降的变化趋势。分析原因可能是因为病毒粒子的入侵激活了 *PO* 酶原,使 *PO* 活性增高,但随着病毒侵入宿主时间的延长,病毒粒子大量扩增,破坏了昆虫的免疫系统,使 *PO* 活性增高的级联反应受到抑制,导致 *PO* 活性减弱。这也说明了不同昆虫在应对外来刺激时,其酚氧化酶的工作机理也不尽相同。同时,感毒的烟青虫幼虫的血淋巴黑化率一直下降,而血淋巴中 *PO* 活性先上升后下降,也说明了 *PO* 活性的变化并非是导致血淋巴黑化的直接原因。而烟青虫幼虫细胞免疫和体液免疫之间是如何协同作用共同抵御外来病原体的分子免疫机理尚不清楚,有待于进一步探索研究。

参考文献:

- [1] 高岩,王人民.烟青虫生物学特征和生态学特性[J].河南农业科学,2005,34(5):46-48.
- [2] 陈晓娟,邹禹.农田烟夜蛾生物学与生态学特性及防控研究现状[J].中国植保导刊,2015,35(12):21-25.
- [3] 丁翠,蔡秀玉.烟青虫感染核型多角体病毒后的耗氧量变化[J].昆虫学报,1989,32(1):17-21.
- [4] 邓塔,蔡秀玉.烟青虫核型多角体病毒的复制和染病后血淋巴蛋白的变化[J].昆虫学报,1993,36(4):423-430.
- [5] 尹飞,胡琼波,钟国华,等.昆虫病原真菌抗血淋巴免疫的机理[J].中国生物防治学报,2009(S1):63-70.
- [6] 谈娟,周其明,崔红娟.昆虫造血作用和造血干细胞研究进展[J].昆虫学报,2011,54(10):1165-1171.
- [7] 田俊策,叶恭银.鳞翅目昆虫血细胞鉴定与分离纯化的几种方法[J].昆虫天敌,2006,28(4):174-179.
- [8] 李国荣,张士瑾,李红岩,等.酚氧化酶研究概况 I--特性、功能、分布和在胚胎发育中的变化[J].海洋科学,2003,27(4):4-8.
- [9] 宁媛媛,尤民生,王成树.昆虫免疫识别与病原物免疫逃避机理研究进展[J].昆虫学报,2009,52(5):567-575.
- [10] 吴娜,凌尔军.昆虫细胞免疫反应中的吞噬、集结和包裹作用[J].昆虫学报,2009,52(7):791-798.
- [11] 冯从经,董秋安,翟会峰,等.亚洲玉米螟幼虫应对大肠杆菌注射的血淋巴免疫应激反应[J].昆虫学报,2011,54(2):117-126.
- [12] 季香云,包杨滨,万年峰,等.核型多角体病毒对斜纹夜蛾酚氧化酶活性及血淋巴黑化的影响[J].华中农业大学学报,2014,33(1):47-50.
- [13] 黄诗迪,黄彩萍,于欢,等.棉铃虫核型多角体病毒感染对宿主昆虫 GST 活性及其表达水平的影响[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2015,43(11):129-133.
- [14] 董钧锋,许晓利,牛东升,等.烟青虫人工饲料的改进研究[J].应用昆虫学报,2013,50(1):261-267.
- [15] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72 (S1/2): 248-254.
- [16] 冯从经,邱洪贵,邱中良,等.腰带长体茧蜂对亚洲玉米螟幼虫体内酚氧化酶活性的影响[J].昆虫学报,2004,47(3):298-304.
- [17] 晓帆,林茂松,刘亮山.几种昆虫病原线虫对大蜡螟幼虫血淋巴及其能源物质含量的影响[J].南京农业大学学报,2005,28(3):43-47.
- [18] 张道伟,陈静.酚氧化酶参与德国小蠊对大肠杆菌的免疫应答[J].昆虫学报,2014,57(10):1123-1132.
- [19] 尹丽红,王琛柱,钦俊德.棉铃虫齿唇姬蜂对棉铃虫血淋巴酚氧化酶的影响[J].科学通报,2001,46(15):1303-1307.

(责任编辑:陈海霞)