

# 水稻施用硅肥对稻纵卷叶螟幼虫保护酶和解毒酶活性的影响\*

韩永强<sup>1,2,3\*\*</sup> 文礼章<sup>1\*\*\*</sup> 侯茂林<sup>2,3\*\*\*</sup>

(1. 湖南农业大学植物保护学院, 长沙 410128; 2. 中国农业科学院植物保护研究所, 植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100193; 3. 南方粮油作物协同创新中心, 长沙 410128)

**摘要** 【目的】研究施硅水稻对稻纵卷叶螟 *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée) 幼虫保护酶(过氧化氢酶 CAT、过氧化物酶 POD、超氧化物歧化酶 SOD)和解毒酶(谷胱甘肽-S-转移酶 GST、乙酰胆碱酯酶 AChE)活性的影响,为探明硅增强水稻抗稻纵卷叶螟的机理和稻纵卷叶螟的综合治理提供依据。【方法】采用感虫水稻品种 TN1,设置 2 种施硅水平,即 0.32 g Si/kg 土壤(Si+)和不施硅(Si-),测定取食水稻 24、48、72、96 h 后 3 龄幼虫体内 CAT、POD、SOD、GST、AChE 活性的动态变化。【结果】幼虫取食 Si+水稻前期(24~48 h),CAT、POD、SOD 活性呈上升趋势,并在 48 h 时达到最高值;取食后期(48~96 h),CAT、POD、SOD 活性下降并在 96 h 时显著低于 Si-处理。在 Si-处理中,幼虫 CAT 和 POD 活性“先降低、再升高”,SOD 活性呈一直增大的趋势。取食 Si+水稻幼虫 GST 活性始终显著高于 Si-处理,而 AChE 活性均低于 Si-水稻,并在 72 h 和 96 h 时显著低于 Si-水稻。处理间幼虫存活率存在显著差异,Si+水稻上 1 龄和 3 龄幼虫的存活率显著低于 Si-水稻。这些结果说明,硅处理可能使稻纵卷叶螟幼虫产生应激反应引起保护酶活性在短时间内增大,但取食一段时间后保护酶活性下降。AChE 活性受到抑制,会引起昆虫神经传导的异常反应,造成昆虫死亡。【结论】硅可能通过参与植物的生理代谢过程,诱导植物增加次生代谢物的合成和积累,引起稻纵卷叶螟保护酶和解毒酶的活性变化,可能会影响稻纵卷叶螟的存活。

**关键词** 稻纵卷叶螟,水稻,硅,保护酶,解毒酶

## Effects of providing additional silicon to host plants on the activity of protective and detoxifying enzymes in *Cnaphalocrocis medinalis* larvae

HAN Yong-Qiang<sup>1,2,3\*\*</sup> WEN Li-Zhang<sup>1\*\*\*</sup> HOU Mao-Lin<sup>2,3\*\*\*</sup>

(1. College of Plant Protection, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2. State Key Laboratory for Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 3. Southern Regional Collaborative Innovation Center for Grain and Oil Crops in China, Changsha 410128, China)

**Abstract** 【Objectives】To explore the effects of providing additional silicon (Si) to host plants on the activities of protective and detoxifying enzymes in *Cnaphalocrocis medinalis* larvae. Such information may provide evidence of Si-mediated resistance and improve management of insect pests in rice crops. 【Methods】The treatment (Si+) group of *C. medinalis* larvae were fed the leaves of the susceptible rice cultivar Taichung Native 1 (TN1) grown on soil to which 0.32 Si/kg soil had been added. The control (Si-) group were fed the leaves of the same cultivar grown on soil to which no silicon had been added. Catalase (CAT), peroxidase (POD), superoxide dismutase (SOD), glutathione-S-transferases (GST) and acetylcholinesterase (AChE) activity were measured in 3<sup>rd</sup> instar larvae of both the Si+ and Si- groups after these had fed for 24, 48, 72, and 96 h. 【Results】CAT, POD and SOD activity were initially higher in the Si+ than in the Si- group but decreased after larvae had fed for 48 h,

\*资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金项目(31371951);湖南省研究生科研创新项目(CX2015B250)

\*\*第一作者 First author, E-mail: hanyongqiang1984@163.com

\*\*\*通讯作者 Corresponding author, E-mail: mlhou@ippcaas.cn; weninsect123@yahoo.com.cn

收稿日期 Received: 2016-04-19, 接受日期 Accepted: 2016-04-30

becoming significantly lower in the Si+ group after 96 h. Temporal trends in protective enzyme activity differed between the Si- and Si+ groups; CAT and POD activity in the Si+ group first decreased then increased, whereas SOD activity increased consistently throughout the experiment. The addition of Si increased GST activity but decreased AChE activity. Survival rates of 1<sup>st</sup> and 3<sup>rd</sup> instar larvae were significantly lower in the Si+ group. The relatively rapid initial increase in protective enzyme activity observed in the Si+ group may be a response to the higher Si content of the rice leaves they were fed. Inhibition of AChE activity can eventually lead to paralysis and larval death. **[Conclusion]** Si may be involved in plant physiological or metabolic processes that regulate the production and accumulation of secondary metabolic compounds that influence the protective and detoxification enzyme activity of *C. medinalis* larvae, ultimately affecting larval survival.

**Key words** rice leaf folder, rice, silicon, protective enzymes, detoxification enzymes

稻纵卷叶螟 *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée) 属鳞翅目螟蛾科, 是水稻上重要的迁飞性害虫, 主要分布在亚洲、大洋洲、东非等国家和地区 (张孝羲等, 1980)。在我国, 该虫在 1969—1977、1980—1983、1988—1991 和 2003 年至今曾多次暴发成灾, 给水稻生产造成严重的经济损失 (刘宇等, 2008)。此外, 稻纵卷叶螟对常用杀虫剂的抗药性增强, 降低了化学农药的防治效果。面对这种发生态势, 合理采用生态调控技术增强水稻对稻纵卷叶螟的抗性成为其综合治理的重要组分。除遗传途径外, 栽培管理也有望调节水稻对稻纵卷叶螟的抗性, 如增施硅肥 (Han *et al.*, 2015)。

多数研究表明施用硅肥能提高植株硅含量, 从而增强植物对植食性昆虫的抗性 (韩永强等, 2010; Hou and Han, 2010; Sidhu *et al.*, 2013; Ye *et al.*, 2013; Han *et al.*, 2015; He *et al.*, 2015)。被广泛接受的硅增强植物抗虫性的机制是“机械或物理屏障”作用。但也有研究发现, 硅可能参与植物的生理代谢过程, 诱导植物启动自身的防御机制, 主要包括产生有毒的次生代谢物 (如烟碱、呋喃香豆素等) 直接杀伤昆虫; 产生防御蛋白 (如蛋白酶抑制剂、多酚氧化酶等) 降低昆虫对食物的消化能力; 改变植物的营养状况使昆虫不能获得足够的营养等直接防御机制 (Maleck and Dietrich, 1999); 以及释放挥发性化合物来吸引捕食性和寄生性天敌等间接防御机制 (Kvedaras *et al.*, 2010)。

同时, 在与植物长期协同进化的过程中, 昆虫对植物的防御机制也产生了相应的适应对策, 其中一系列保护酶和解毒酶系就是这种适应的

主要方式之一 (朱麟和古德祥, 2000)。昆虫体内广泛存在的保护酶系, 如超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶 (Peroxidase, POD)、过氧化氢酶 (Catalase, CAT) 等, 在昆虫适应逆境胁迫的过程中具有重要作用 (Felton and Summers, 1995; Dubovskiy *et al.*, 2008)。同时, 取食寄主植物及其所含的次生代谢物会诱导昆虫体内乙酰胆碱酯酶 (Acetylcholinesterase, AChE)、谷胱甘肽-S-转移酶 (Glutathione-S-transferases, GST)、羧酸酯酶 (Carboxylesterase, CarE) 等多种解毒酶活性的变化, 这些诱导反应对昆虫适应寄主同样具有重要作用 (Leon and Shyi, 1974; Riskallah *et al.*, 1986)。

抗性水稻品种对稻纵卷叶螟幼虫酶活性存在影响 (王元翔等, 2008; 许璐, 2008; 张巍等, 2008), 水稻施用硅肥能否直接影响稻纵卷叶螟保护酶 (CAT、POD、SOD) 和解毒酶 (GST、AChE) 活性继而影响稻纵卷叶螟幼虫的存活尚不明确。鉴于此, 本文采用盆栽试验, 研究水稻施硅对稻纵卷叶螟幼虫保护酶和解毒酶活性的影响, 以期为进一步探明硅增强水稻抗稻纵卷叶螟的机理和稻纵卷叶螟的综合治理提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 水稻及硅处理

供试水稻品种为 TN1 (感虫品种)。水稻种子在 50 ℃ 温水中浸种 24 h 后置于人工气候箱催芽 72 h。以塑料育秧盒 (长 75 cm, 宽 45 cm, 高 15 cm) 作苗床播种, 苗龄 25 日移栽。秧苗双本移栽到 10 L 的塑料桶 (直径 24.5 cm, 高 20 cm)

中,每桶移栽 2 穴。塑料桶内装同一批同质烘干的砂质壤土(有机质含量 2.19%,全氮含量 1.58 g/kg,速效磷含量 3.22 mg/kg,速效钾含量 98.16 mg/kg,有效硅含量 0.21 g/kg),每桶装 4.2 kg 干土。

根据土壤有效硅含量和水稻对硅的需求量,硅钙钾肥(山西富邦肥业有限公司,可溶性硅含量  $\geq 11.7\%$ ,  $\text{CaO} \geq 25.0$ ,  $\text{K}_2\text{O} \geq 4.0\%$ ,  $\text{MgO} \geq 2.0$ )按照 g Si/kg 土壤的比例施用,设置 2 个水平(按有效成分 Si 计算):(1) 0.32 g/kg (施硅; Si+); (2) 0 g/kg (不施硅; Si- )。

各处理均按每千克土壤施用纯氮 0.37 g (包括磷酸二铵中纯氮的量和尿素中纯氮的量; 尿素, 含 N  $\geq 46.4\%$ ) 五氧化二磷 0.25 g (磷酸二铵, 含 N 16%、 $\text{P}_2\text{O}_5$  44%) 氧化钾 0.35 g (包括硅钙钾肥中  $\text{K}_2\text{O}$  的量和氯化钾中  $\text{K}_2\text{O}$  的量; 氯化钾,  $\text{K}_2\text{O} \geq 60\%$ )。因此,施硅和不施硅处理的氮、磷、钾肥施用量相同。尿素分 4 次施用: 移栽前 (4/10) 分蘖期 (3/10) 抽穗期 (2/10) 乳熟期 (1/10), 磷酸二铵移栽前一次施用, 氯化钾分两次施用: 移栽前 (2/3) 抽穗期 (1/3)。硅钙钾肥于移栽前 72 h 与基肥混合一次施用, 肥料施用后搅拌。

为避免雨水的影响和自然发生害虫的为害,盆栽水稻苗置于温室内。水稻生长期间不施用杀虫剂,按照各生育期的需水规律浇水,浇水量最多以不漫过桶沿为限。

## 1.2 供试虫源

于 2014 年 6 月下旬成虫盛发时,在农业部桂林有害生物野外科学观测实验站(广西桂林市兴安县)稻田内用捕虫网捕捉成虫,然后将其置于圆柱形纱网笼罩(纱网直径 123 cm,高 103 cm; 内衬圆柱形铁丝框架,直径 120 cm,高 100 cm)中,选取移栽后 40 d 不施硅盆栽稻株,放入笼罩内,供稻纵卷叶螟卷成虫产卵。每隔 24 h,剪取带有卵粒的水稻叶片,一端用脱脂棉保湿,置于铺有湿润滤纸的培养皿(直径 9 cm,高 2 cm)中,于人工气候箱中[(28  $\pm$  1)  $^{\circ}\text{C}$ , RH70  $\pm$  5%, L:D=16:8]培养,孵化的幼虫用不施硅水稻叶片饲养,分别取 1、2、3、4、5 龄幼虫供试。

## 1.3 试虫处理

选取移栽后 40 日龄施硅 (Si+) 和不施硅 (Si-) TN1 盆栽稻株各 12 盆。每盆随机挑选 10 株健壮分蘖,用小毛笔将 3 龄幼虫接入包括心叶在内的倒数第二片完全叶上,每分蘖接 1 头,每盆接 10 头。接虫前仔细清除水稻叶片和茎秆上可能存在的其它昆虫,接虫盆栽稻株置于室外自然温度和光照下,分别用圆柱形纱网笼罩(纱网直径 123 cm,高 103 cm; 内衬圆柱形铁丝框架,直径 120 cm,高 100 cm)罩住,防止天敌捕食幼虫或其他昆虫进入。

待幼虫取食时间达到 24、48、72、96 h 时,随机采集接虫盆栽稻株上的稻纵卷叶螟幼虫,每处理每时段采集 3 盆稻株,共 30 头幼虫。采集的幼虫立即置于 -80  $^{\circ}\text{C}$  下保存,用于酶活性测定。

## 1.4 酶活性测定

**1.4.1 酶液制备** 每处理每时段取冷冻保存的稻纵卷叶螟幼虫 18 头(每 6 头为 1 次重复),用双蒸水冲洗干净后再用滤纸吸干虫体表面水分。幼虫称重后,按重量 (g): 体积 (mL) = 1:9 的比例加入 9 倍体积预冷的 1% 聚乙烯吡咯烷酮 (pH 7.0, 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液配制),冰浴匀浆,在 4  $^{\circ}\text{C}$  以 12 000 r/min 转速离心 10 min,取上清液为保护酶 (CAT、POD、SOD) 待测液。

同时,每处理每时段取冷冻保存的稻纵卷叶螟幼虫 12 头(每 4 头为 1 次重复),用双蒸水冲洗干净后再用滤纸吸干虫体表面水分。幼虫称重后,按重量 (g): 体积 (mL) = 1:9 的比例加入 9 倍体积预冷的 pH 7.2, 0.04 mol/L 的磷酸盐缓冲液,冰浴匀浆,在 4  $^{\circ}\text{C}$  以 4 000 r/min 转速离心 10 min,取上清液为解毒酶 (GST 和 AChE) 待测液。

**1.4.2 测定方法** 稻纵卷叶螟幼虫 CAT、POD、SOD、GST 和 AChE 酶活性测定参照相关试剂盒(南京建成生物工程研究所,南京)。酶液蛋白质含量采用考马斯亮蓝法 (Bradford, 1976) 测定。每处理每时段不同酶活性采用不同样品重复测定 3 次。

### 1.5 硅处理水稻对稻纵卷叶螟幼虫存活的影响

采用离体稻叶饲养法测定稻纵卷叶螟各龄期幼虫的存活率。选取移栽后 40 日龄施硅 (Si+) 和不施硅 (Si-) TN1 盆栽稻株, 剪取包括心叶在内的倒数第二片完全叶 5 段, 一端用脱脂棉保湿, 置于铺有湿润滤纸的培养皿 (直径 15 cm, 高 2 cm) 中, 每皿接 5 头幼虫, 每重复接 4 个培养皿, 共 20 头幼虫, 于人工气候箱中 [ $(28 \pm 1)^\circ\text{C}$ ,  $\text{RH}70 \pm 5\%$ ,  $\text{L:D} = 16:8$ ] 培养。72 h 后计数存活幼虫数 (用小毛笔轻触虫体, 不动者视为死亡), 计算幼虫存活率。每处理每个龄期 3 次重复。

### 1.6 数据分析

试验所得数据采用 SPSS16.0 统计软件进行分析。用双因子方差分析 (Two-way ANOVA) 研究硅处理和接虫时间对稻纵卷叶螟幼虫保护酶和解毒酶活性的影响。用独立样本  $t$ -检验比较不同处理间的差异显著性 ( $P=0.05$ ), 百分数数据需进行平方根反正弦转换后再进行检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 硅处理水稻对稻纵卷叶螟幼虫体内保护酶活性的影响

双因子方差分析结果表明, 接虫时间对稻纵卷叶螟幼虫 CAT 活性有显著影响 ( $F=17.529$ ,  $df=3, 23$ ,  $P<0.001$ ), 而硅处理对稻纵卷叶螟幼虫 CAT 活性影响不显著 ( $F=3.245$ ,  $df=1, 23$ ,  $P=0.091$ )。硅处理和接虫时间之间存在显著的交互作用 ( $F=15.113$ ,  $df=3, 23$ ,  $P<0.001$ )。

硅处理水稻对稻纵卷叶螟幼虫体内 CAT 活性的影响如图 1。稻纵卷叶螟幼虫取食 Si+水稻后, 体内 CAT 活性在 24~96 h 内呈现“升高、降低、再升高”的趋势。取食 24 h 时, 体内 CAT 活性 Si+处理显著低于 Si-处理 ( $|t|=4.031$ ,  $df=4$ ,  $P=0.016$ ), 下降幅度为 39.0%。取食 48 h 和 72 h 时, 体内 CAT 活性 Si+处理稍高于 Si-处理, 差异不显著 (48 h:  $|t|=2.058$ ,  $df=4$ ,  $P=0.109$ ; 72 h:  $|t|=2.031$ ,  $df=4$ ,  $P=0.112$ )。取食 96 h 时, 体内 CAT 活性 Si+处理显著低于 Si-处理 ( $|t|=8.646$ ,  $df=4$ ,  $P=0.001$ ), 降低 37.5%。

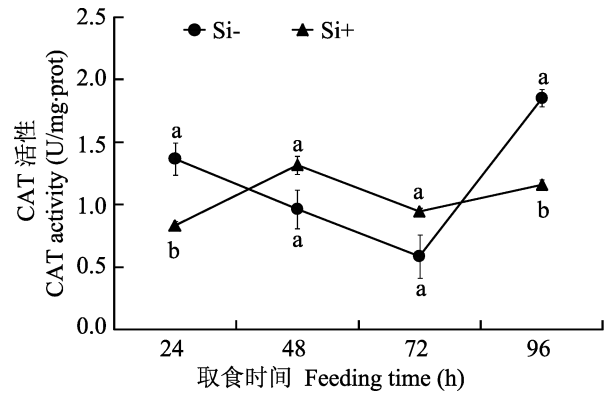


图 1 硅处理水稻对稻纵卷叶螟幼虫体内过氧化氢酶 (CAT) 活性的影响

Fig. 1 Dynamics of the effects of silicon addition to host plants on the activity of CAT in *Cnaphalocrocis medinalis* larvae

数据为平均值±标准误。同一时间点上标注字母不同表示差异显著 ( $t$ -检验,  $P<0.05$ )。图 2~图 5 同。

Data are mean±SE. Different lower case letters over the same time point indicate significant difference ( $t$ -test,  $P<0.05$ ). The same as Fig. 2-Fig. 5.

硅处理 ( $F=36.047$ ,  $df=1, 23$ ,  $P<0.001$ )、接虫时间 ( $F=30.522$ ,  $df=3, 23$ ,  $P<0.001$ ) 及其交互作用 ( $F=58.997$ ,  $df=3, 23$ ,  $P<0.001$ ) 均显著影响稻纵卷叶螟幼虫 POD 活性。

硅处理水稻对稻纵卷叶螟幼虫体内 POD 活性的影响如图 2 所示。幼虫取食 Si+水稻 24 h 时, 体内 POD 活性与 Si-处理之间没有显著差异 ( $|t|=1.185$ ,  $df=4$ ,  $P=0.302$ )。幼虫取食 Si+水稻

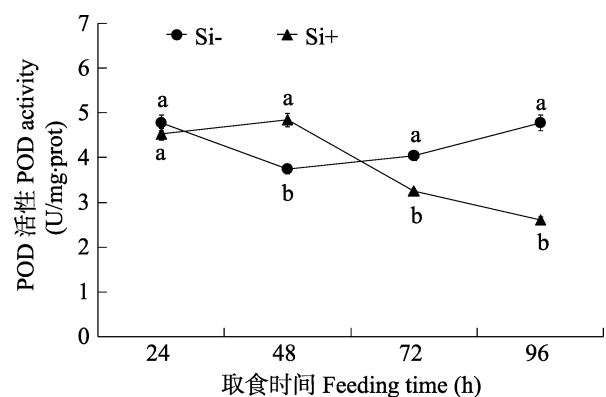


图 2 硅处理水稻对稻纵卷叶螟幼虫体内过氧化物酶 (POD) 活性的影响

Fig. 2 Dynamics of the effects of silicon addition to host plants on the activity of POD in *Cnaphalocrocis medinalis* larvae

48 h 时, POD 活性达到最大值, 显著高于 Si-处理 ( $|t|=6.423$ ,  $df=4$ ,  $P=0.003$ )。此后, Si+水稻上幼虫 POD 活性逐渐下降, 在 72 h 和 96 h 时显著低于 Si-处理 (72 h:  $|t|=7.161$ ,  $df=4$ ,  $P=0.002$ ; 96 h:  $|t|=11.299$ ,  $df=4$ ,  $P<0.001$ ), 分别比 Si-处理降低 19.5% 和 45.5%。取食时间从 24 h 到 48 h 和 48 h 到 96 h 间, 稻纵卷叶螟幼虫 POD 活性在 Si-水稻与 Si+水稻上呈相反的变化格局。

硅处理、接虫时间及硅处理和接虫时间的交互作用对稻纵卷叶螟幼虫 SOD 活性均有显著影响 ( $F=81.657$ ,  $df=1, 23$ ,  $P<0.001$ ;  $F=228.921$ ,  $df=3, 23$ ,  $P<0.001$ ;  $F=120.429$ ,  $df=3, 23$ ,  $P<0.001$ )。

稻纵卷叶螟幼虫 SOD 活性测定结果 (图 3) 表明, 幼虫取食 Si+水稻 24 h 时, 体内 SOD 活性与 Si-处理之间差异不显著 ( $|t|=2.483$ ,  $df=4$ ,  $P=0.068$ )。取食时间从 24 h 到 48 h 间, Si+水稻上幼虫 SOD 活性快速上升, 在 48 h 时达到最大值, 且显著高于 Si-处理 ( $|t|=15.608$ ,  $df=4$ ,  $P<0.001$ ), 比 Si-处理增加 257.1%。此后, Si+水稻上幼虫 SOD 活性逐渐下降, 在 96 h 达到最低值, 并显著低于 Si-处理 ( $|t|=3.784$ ,  $df=4$ ,  $P=0.019$ )。而在 Si-水稻上, 幼虫 SOD 活性呈逐渐上升趋势。

## 2.2 硅处理水稻对稻纵卷叶螟幼虫体内解毒酶活性的影响

### 2.2.1 硅处理水稻对稻纵卷叶螟幼虫体内 GST 活性的影响

硅处理、接虫时间对稻纵卷叶螟幼

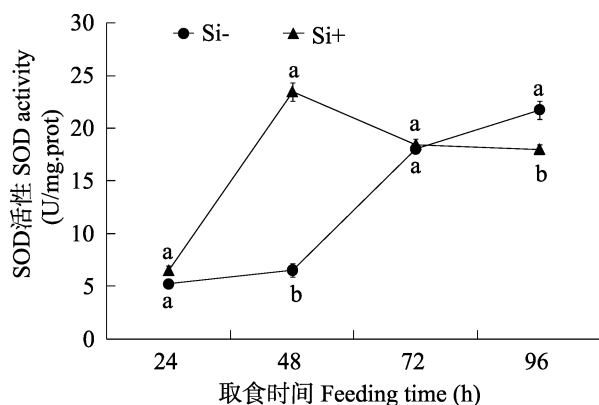


图 3 硅处理水稻对稻纵卷叶螟幼虫体内超氧化物歧化酶 (SOD) 活性的影响

Fig. 3 Dynamics of the effects of silicon addition to host plants on the activity of SOD in *Cnaphalocrocis medinalis* larvae

虫 GST 活性有显著影响 ( $F=84.180$ ,  $df=1, 23$ ,  $P<0.001$ ;  $F=81.080$ ,  $df=3, 23$ ,  $P<0.001$ ), 两者间的交互作用也有显著影响 ( $F=5.938$ ,  $df=3, 23$ ,  $P=0.006$ )。

由图 4 可知, 取食 Si+水稻 24~96 h 内, 幼虫 GST 活性呈“先降低、再升高”的变化趋势; 而取食 Si-水稻幼虫 GST 活性呈现“升高、降低、再升高”的趋势。与 Si-处理相比, Si+处理显著增加了幼虫 GST 活性 (24 h:  $|t|=2.891$ ,  $df=4$ ,  $P=0.045$ ; 48 h:  $|t|=2.966$ ,  $df=4$ ,  $P=0.041$ ; 72 h:  $|t|=5.240$ ,  $df=4$ ,  $P=0.006$ ; 96 h:  $|t|=23.063$ ,  $df=4$ ,  $P<0.001$ )。取食 Si+水稻 24、48、72 和 96 h 时, 幼虫 GST 活性分别比 Si-处理增加 30.5%、7.6%、100.9% 和 115.7%。

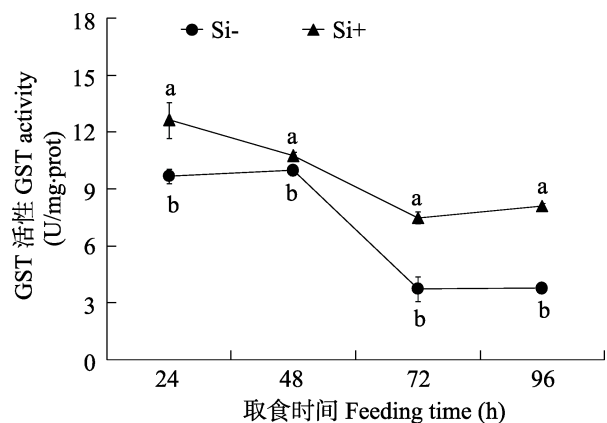


图 4 硅处理水稻对稻纵卷叶螟幼虫体内谷胱甘肽-S-转移动酶 (GST) 活性的影响

Fig. 4 Dynamics of the effects of silicon addition to host plants on the activity of GST in *Cnaphalocrocis medinalis* larvae

2.2.2 硅处理水稻对稻纵卷叶螟幼虫体内 AChE 活性的影响 硅处理、接虫时间对稻纵卷叶螟幼虫 AChE 活性有显著影响 ( $F=61.916$ ,  $df=1, 23$ ,  $P<0.001$ ;  $F=19.395$ ,  $df=3, 23$ ,  $P<0.001$ )。硅处理和接虫时间对稻纵卷叶螟幼虫 AChE 活性有显著的交互作用 ( $F=8.082$ ,  $df=3, 23$ ,  $P=0.002$ )。

从图 5 可以看出, 稻纵卷叶螟幼虫取食 Si+和 Si-水稻后, 体内 AChE 活性呈“先升高、后降低”的变化趋势。与 Si-处理相比, Si+处理降低了幼虫 AChE 活性, 在 72 h 和 96 h 显著低于 Si-处理 (72 h:  $|t|=5.020$ ,  $df=4$ ,  $P=0.007$ ; 96 h:  $|t|=9.007$ ,  $df=4$ ,  $P=0.001$ )。取食 Si+水稻 24、48、

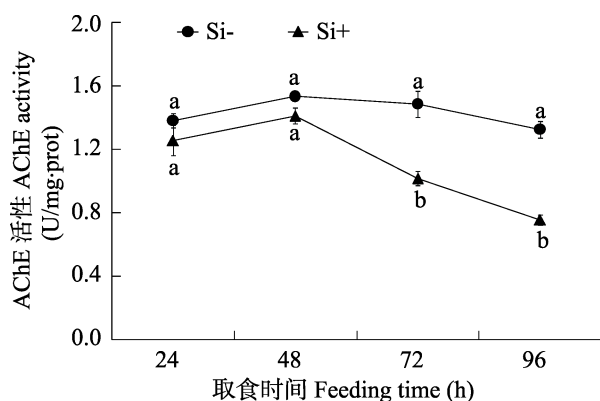


图5 硅处理水稻对稻纵卷叶螟幼虫体内乙酰胆碱酯酶 (AChE) 活性的影响

Fig. 5 Dynamics of the effects of silicon addition to host plants on the activity of AChE in *Cnaphalocrocis medinalis* larvae

72 和 96 h 时, 幼虫 AChE 活性分别比 Si-处理降低 9.1%、7.9%、31.6%和 43.1%。

### 2.3 硅处理水稻对稻纵卷叶螟幼虫存活的影响

如图 6 所示, 硅处理水稻对稻纵卷叶螟 1 龄和 3 龄幼虫的存活有显著影响 (1 龄:  $|t|=4.955$ ,  $df=4$ ,  $P=0.008$  3 龄:  $|t|=13.002$ ,  $df=4$ ,  $P<0.001$ ), Si+水稻上 1 龄和 3 龄幼虫的存活率分别比 Si-处理显著降低 12.8%和 37.8%。其它龄期稻纵卷叶螟幼虫存活率未受到硅处理的影响 (2 龄:  $|t|=0.534$ ,  $df=4$ ,  $P=0.622$ ; 4 龄:  $|t|=1.910$ ,  $df=4$ ,  $P=0.129$ ; 5 龄:  $|t|=1.215$ ,  $df=4$ ,  $P=0.291$ )。

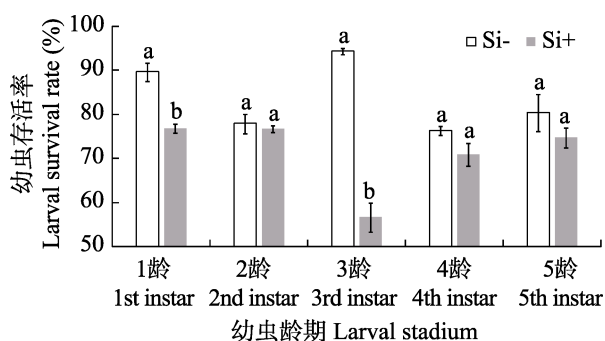


图6 硅处理水稻对稻纵卷叶螟幼虫存活的影响

Fig. 6 Effects of silicon addition to host plants on the larval survival rate of *Cnaphalocrocis medinalis*

数据为平均值±标准误。同一龄期柱上标注字母不同表示差异显著 ( $t$ -检验,  $P<0.05$ )。

Data are mean±SE. Histograms with different letters in a certain larval stadium indicate significant difference ( $t$ -test,  $P<0.05$ ).

## 3 讨论

多数研究表明, 昆虫在农药、温度、水分、营养等逆境胁迫条件下, 体内会产生和积累超氧自由基 ( $O_2^{\cdot-}$ )、羟基自由基 ( $OH^{\cdot}$ ) 和过氧化氢 ( $H_2O_2$ ) 等活性氧物质, 它们的强氧化能力对生物功能分子具有破坏作用 (Zaman *et al.*, 1995; Fridovich, 1998; Jing *et al.*, 2005; 常晓娜等, 2008)。但昆虫体内同时存在着由 CAT、POD 和 SOD 组成的保护酶系统, 能够清除体内多余的自由基, 其中 SOD 能催化  $O_2^{\cdot-}$  生成  $H_2O_2$ ,  $H_2O_2$  能被 CAT 和 POD 分解, 3 种酶协调作用, 可以维持昆虫体内自由基代谢的动态平衡, 提高生物体对逆境胁迫的耐受能力 (Felton and Summers, 1995; Fridovich, 1998; Wang *et al.*, 2001; Dubovskiy *et al.*, 2008)。朱建兰等 (2008) 研究发现, 苜蓿钩麦蛾 *Aproaerema anthylidella* (Hübner) 幼虫受四脊裸胞壳 (*Emericella quadrilineata*) Dh 菌株侵染后, 体内 CAT、POD 和 SOD 活性随侵染时间延长呈上升趋势。冯宏祖等 (2008) 研究表明, 不适宜的高温和低温均能使朱砂叶螨 *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) 体内的自由基含量和 CAT、POD、SOD 活性升高。因此, CAT、POD 和 SOD 在清除体内自由基、防止膜脂过氧化、减少膜系统损伤等方面都具有一定的保护作用。

本研究中, 稻纵卷叶螟幼虫取食 Si+水稻 24 h 时, CAT 活性显著低于 Si-处理, POD 和 SOD 活性与 Si-处理之间差异不显著; 取食时间从 24 h 到 48 h 间, SOD 活性快速上升, CAT 和 POD 活性也有不同程度的增加, 且 CAT 活性的增加幅度大于 POD; 说明取食 Si+水稻可能会增加幼虫体内自由基含量, 在自由基清除方面 SOD 和 CAT 起主要作用, POD 作用不明显。取食 Si+水稻 48~96 h 内, 幼虫 CAT、POD 和 SOD 活性均有不同程度的下降, 并在 96 h 时显著低于 Si-处理。以上结果表明, 取食 Si+水稻前期, 幼虫以升高体内保护酶活性的方式来保护和维持机体的正常功能; 取食后期, 由于保护酶活性不能

长时间维持应激水平,造成虫体内活性氧物质不断积累,自由基清除受阻,导致幼虫解毒能力下降,害虫容易致死。这与王亓翔等(2008)、许璐(2008)针对稻纵卷叶螟的研究结果相一致,他们的结果表明,取食抗虫水稻品种幼虫体内的SOD活性显著低于感虫品种。而陈建明等(2003)、刘玉坤等(2011)对白背飞虱和褐飞虱的研究结果不同,他们的研究发现,取食抗性水稻品种白背飞虱和褐飞虱体内的SOD和POD活性均显著高于感虫品种,原因可能是水稻品种和害虫取食习性不同造成的差异。

AChE和GST是昆虫体内重要的解毒酶,对昆虫分解有毒外源化合物、维持正常生理代谢具有重要作用;当解毒酶活性受到抑制后,会延长有毒外源化合物在昆虫体内的运输和存留时间,并发挥其毒效而致昆虫中毒(周奋启等,2011)。AChE是生物神经传导中的一种关键性酶,能水解神经递质乙酰胆碱(Acetylcholine, Ach)生成胆碱和乙酸,终止神经递质对神经突触后膜的兴奋作用,保证神经信号在生物体内的正常传递(Fournier and Mutero, 1994)。GST能催化内源或外源性有毒物质的亲电子基团与还原型谷胱甘肽(GSH)的巯基偶联,增加其疏水性使其易于穿透细胞膜,分解后排出体外,从而达到解毒的目的,保护DNA和蛋白质免受损伤(杨海灵等,2006;Dubovskiy *et al.*, 2008; Meng *et al.*, 2009)。已有研究表明,寄主植物所含的次生代谢物会诱导昆虫产生与杀虫剂代谢酶系相同或相近的解毒酶系(Abd-Elghafar *et al.*, 1989;王建军等,2001),当昆虫取食不同寄主植物时,其解毒酶系会发生明显的变化,而解毒酶活性升高是害虫产生代谢抗性的重要因素(Riskallah *et al.*, 1986; Mainguet *et al.*, 2000; 曾任森等,2008)。

本研究中,Si+水稻上1龄和3龄幼虫的存活率显著低于Si-处理;幼虫取食Si+水稻24~96 h内,体内GST活性均显著高于Si-处理;AChE活性均低于Si-处理,并在72 h和96 h时显著低于Si-处理。原因可能是昆虫取食胁迫诱导植物激活体内的防御反应,硅处理可能在一定程度上放大了植物的这种诱导防御反应(Han *et al.*,

2016),通过增加植物次生代谢物的合成和积累,从而引起稻纵卷叶螟幼虫体内GST活性上升,AChE活性下降。GST活性上升是植食性昆虫对抗虫品种(许璐,2008)、杀虫剂(孙艳娟等,2015)的应激反应;因此,本研究中GST活性的上升可能是对施硅水稻中次生化合物含量增大的反应。AChE活性受到抑制,会造成乙酰胆碱在体内积累,引起昆虫神经传导的异常反应,最终导致昆虫死亡。这可能是本文中稻纵卷叶螟1龄和3龄幼虫在Si+水稻上存活率显著降低的原因之一。施硅对其它龄期稻纵卷叶螟幼虫存活率没有显著影响。目前尚不清楚这种龄期间差异的具体原因,可能与不同龄期幼虫对施硅水稻的敏感性、取食量、口器(特别是上颚)特点等方面的差异有关(Fraenkel *et al.*, 1981; Massey *et al.*, 2007),这有待于进一步研究。

根据本文结果,水稻施硅引起稻纵卷叶螟保护酶活性先上升后下降,解毒酶GST活性升高、AChE活性降低,同时稻纵卷叶螟幼虫存活率下降。这些变化是因为水稻施硅增大了稻叶中硅含量的直接结果,还是施硅影响植物生理代谢过程、诱导植物增加次生代谢物合成和积累的间接结果,抑或是施硅的直接和间接影响的综合结果,还有待于深入研究。

## 参考文献 (References)

- Abd-Elghafar SF, Dauterman WC, Hodgson E, 1989. In vivo penetration and metabolism of methyl parathion in larvae of the tobacco budworm, *Heliothis virescens* (F.), fed different host plants. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 33(1): 49–56.
- Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1): 248–254.
- Chang XN, Gao HJ, Chen FJ, Zhai BP, 2008. Effects of environmental moisture and precipitation on insects: A review. *Chinese Journal of Ecology*, 27(4): 619–625. [常晓娜, 高慧璟, 陈法军, 翟保平, 2008. 环境湿度和降雨对昆虫的影响. 生态学杂志, 27(4): 619–625.]
- Chen JM, Yu XP, Lu ZX, Tao LY, Zhang XS, Xu HX, Cheng JA, 2003. Adaptation of *Sogatella furcifera* to insect-resistant rice variety N22. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 14(11):

- 1939–1942. [陈建明, 俞晓平, 吕仲贤, 陶林勇, 郑许松, 徐红星, 程家安, 2003. 白背飞虱对水稻抗虫品种 N<sub>22</sub> 的适应性研究. 应用生态学报, 14(11): 1939–1942.]
- Dubovskiy IM, Martemyanov VV, Vorontsova YL, Rantala MJ, Gryzanova EV, Glupov VV, 2008. Effect of bacterial infection on antioxidant activity and lipid peroxidation in the midgut of *Galleria mellonella* L. larvae (Lepidoptera, Pyralidae). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 148(1): 1–5.
- Felton GW, Summers CB, 1995. Antioxidant systems in insects. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 29(2): 187–197.
- Feng HZ, Liu YH, He L, Lu RE, Yang DX, 2008. Effects of abamectin and temperature stresses on free radicals and protective enzyme activities in *Tetranychus cinnabarinus*. *Acta Phytophylacica Sinica*, 35(6): 530–536. [冯宏祖, 刘映红, 何林, 陆蕊娥, 杨大兴, 2008. 阿维菌素和温度胁迫对朱砂叶螨自由基及保护酶活性的影响. 植物保护学报, 35(6): 530–536.]
- Fournier D, Mutero A, 1994. Modification of acetylcholinesterase as a mechanism of resistance to insecticides. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 108(1): 19–31.
- Fraenkel G, Fallil F, Kumarasinghe KS, 1981. The feeding behaviour of the rice leaf folder, *Cnaphalocrocis medinalis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 29(2): 147–161.
- Fridovich I, 1998. Oxygen toxicity: a radical explanation. *Journal of Experimental Biology*, 201(8): 1203–1209.
- Han YQ, Lei WB, Wen LZ, Hou ML, 2015. Silicon-mediated resistance in a susceptible rice variety to the rice leaf folder, *Cnaphalocrocis medinalis* Guenée (Lepidoptera: Pyralidae). *PLoS ONE*, 10(4): e0120557.
- Han YQ, Li P, Gong SL, Yang L, Wen LZ, Hou ML, 2016. Defense responses in rice induced by silicon amendment against infestation by the leaf folder *Cnaphalocrocis medinalis*. *PLoS ONE*, 11(4): e0153918.
- Han YQ, Liu C, Hou ML, 2010. Silicon-mediated effects of rice plants on boring behavior of *Chilo suppressalis* larvae. *Acta Ecologica Sinica*, 30(21): 5967–5974. [韩永强, 刘川, 侯茂林, 2010. 硅介导的水稻对二化螟幼虫钻蛀行为的影响. 生态学报, 30(21): 5967–5974.]
- He WQ, Yang M, Li ZH, Qiu JL, Liu F, Qu XS, Qiu YF, Li RB, 2015. High levels of silicon provided as a nutrient in hydroponic culture enhances rice plant resistance to brown planthopper. *Crop Protection*, 67: 20–25.
- Hou ML, Han YQ, 2010. Si-mediated rice plant resistance to the Asiatic rice borer: effects of silicon amendment and rice varietal resistance. *Journal of Economic Entomology*, 103(4): 1412–1419.
- Jing XH, Wang XH, Kang L, 2005. Chill injury in the eggs of the migratory locust, *Locusta migratoria* (Orthoptera: Acrididae): the time-temperature relationship with high-temperature interruption. *Insect Science*, 12(3): 171–178.
- Kvedaras OL, An M, Choi YS, Gurr GM, 2010. Silicon enhances natural enemy attraction and biological control through induced plant defences. *Bulletin of Entomological Research*, 100(3): 367–371.
- Leon CT, Shyi JY, 1974. Induction of detoxifying enzymes in insects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 22(3): 366–373.
- Liu Y, Wang JQ, Feng XD, Jiang XH, 2008. Nationwide happened live analysis of rice leaf folder *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée) in 2007 and trend prediction in 2008. *China Plant Protection*, 28(7): 33–35. [刘宇, 王建强, 冯晓东, 蒋学辉, 2008. 2007 年全国稻纵卷叶螟发生实况分析与 2008 年发生趋势预测. 中国植保导刊, 28(7): 33–35.]
- Liu YK, Wang WX, Fu Q, Lai FX, Luo J, 2011. Effects of host plants on activities of detoxification and protective enzymes in three rice planthoppers. *Chinese Journal of Rice Science*, 25(6): 659–666. [刘玉坤, 王渭霞, 傅强, 赖凤香, 罗举, 2011. 寄主植物对 3 种稻飞虱解毒酶和保护酶活性的影响. 中国水稻科学, 25(6): 659–666.]
- Mainguet AM, Louveaux A, El Sayed G, Rollin P, 2000. Ability of a generalist insect, *Schistocerca gregaria*, to overcome thioglucoside defense in desert plants: tolerance or adaptation?. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 94(3): 309–317.
- Maleck K, Dietrich RA, 1999. Defense on multiple fronts: how do plants cope with diverse enemies? *Trends in Plant Science*, 4(6): 215–219.
- Massey FP, Ennos AR, Hartley SE, 2007. Herbivore specific induction of silica-based plant defences. *Oecologia*, 152(4): 677–683.
- Meng JY, Zhang CY, Zhu F, Wang XP, Lei CL, 2009. Ultraviolet light-induced oxidative stress: effects on antioxidant response of *Helicoverpa armigera* adults. *Journal of Insect Physiology*, 55(6): 588–592.
- Riskallah MR, Dauterman WC, Hodgson E, 1986. Host plant induction of microsomal monooxygenase activity in relation to diazinon metabolism and toxicity in larvae of the tobacco budworm *Heteriothis virescens* (F.). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 25(2): 233–247.
- Sidhu JK, Stout MJ, Blouin DC, Datnoff LE, 2013. Effect of silicon soil amendment on performance of sugarcane borer, *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera:Crambidae) on rice. *Bulletin of Entomological Research*, 103(6): 656–664.
- Sun YJ, Yang ZD, Li M, 2015. Effects of three insecticides on toxicity and esterase activity in *Coloana cinerea* Dworakowska.

- Guangdong Agricultural Sciences*, 42(9): 77–81. [孙艳娟, 杨振德, 李明, 2015. 3 种杀虫剂对灰同缘小叶蝉的毒力及其体内酶活性的影响. *广东农业科学*, 42(9): 77–81.]
- Wang JJ, Dai ZY, Yang YZ, 2001. Changes of cotton bollworms feeding on different host plants to beta-cypermethrin. *Cotton Science*, 13(5): 286–289. [王建军, 戴志一, 杨益众, 2001. 取食不同寄主植物的棉铃虫对高效氯氰菊酯敏感性的变化. *棉花学报*, 13(5): 286–289.]
- Wang QX, Xu L, Wu JC, 2008. Physical and biochemical mechanisms of resistance of different rice varieties to the rice leaf folder, *Cnaphalocrocis medinalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Acta Entomologica Sinica*, 51(12): 1265–1270. [王仟翔, 许璐, 吴进才, 2008. 水稻品种对稻纵卷叶螟抗性的物理及生化机制. *昆虫学报*, 51(12): 1265–1270.]
- Wang Y, Oberley LW, Murhammer DW, 2001. Antioxidant defense systems of two Lepidopteran insect cell lines. *Free Radical Biology and Medicine*, 30(11): 1254–1262.
- Xu L, 2008. Study on resistance and physiological and biochemical mechanism of different rice varieties to rice leaf folder *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée) infestation. Master dissertation. Yangzhou: Yangzhou University. [许璐, 2008. 不同水稻品种对稻纵卷叶螟的抗性及其生理生化机制研究. 硕士学位论文. 扬州: 扬州大学.]
- Yang HL, Nie LJ, Zhu SG, Zhou XW, 2006. Structure and catalytic mechanism of the glutathione transferases. *Journal of Chengdu University*, 25(1): 19–24. [杨海灵, 聂力嘉, 朱圣庚, 周先碗, 2006. 谷胱甘肽硫转移酶结构与功能研究进展. *成都大学学报*, 25(1): 19–24.]
- Ye M, Song YY, Long J, Wang RL, Baerson SR, Pan ZQ, Zhu-Salzman K, Xie JF, Cai KZ, Luo SM, Zeng RS, 2013. Priming of jasmonate-mediated antiherbivore defense responses in rice by silicon. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(38): E3631–E3639.
- Zaman K, MacGill RS, Johnson JE, Ahmad S, Pardini RS, 1995. An insect model for assessing oxidative stress related to arsenic toxicity. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 29(2): 199–209.
- Zeng RS, Su YJ, Ye M, Xie LJ, Chen M, Song YY, 2008. Plant induced defense and biochemical mechanisms. *Journal of South China Agricultural University*, 29(2): 1–6. [曾任森, 苏贻娟, 叶茂, 谢丽君, 陈敏, 宋圆圆, 2008. 植物的诱导抗性及其生化机理. *华南农业大学学报*, 29(2): 1–6.]
- Zhang W, Zhang ZG, Fu XQ, Liu LJ, Yan HM, 2008. Effects of transgenic Bt rice on the activities of three protective enzymes in larvae of the rice leaf folder, *Cnaphalocrocis medinalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Acta Entomologica Sinica*, 51(10): 1022–1027. [张巍, 张志罡, 付秀芹, 刘立军, 颜亨梅, 2008. 转 Bt 基因水稻对稻纵卷叶螟幼虫体内三种保护酶活性的影响. *昆虫学报*, 51(10): 1022–1027.]
- Zhang XX, Lu ZQ, Geng JG, Li GZ, Chen XL, Wu XW, 1980. Studies on the migration of rice leaf folder *Cnaphalocrocis medinalis* Guenée. *Acta Entomologica Sinica*, 23(2): 130–140. [张孝羲, 陆自强, 耿济国, 李国柱, 陈学礼, 吴学文, 1980. 稻纵卷叶螟迁飞途径的研究. *昆虫学报*, 23(2): 130–140.]
- Zhou FQ, Lu YY, Yao Y, Zhang YX, Zhu SD, 2011. Effect of host plants on protective enzymes and detoxification enzymes of *Bemisia tabaci* populations. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 27(1): 57–61. [周奋启, 陆艳艳, 姚远, 张云霞, 祝树德, 2011. 不同寄主植物对 B 型烟粉虱种群保护酶和解毒酶的影响. *江苏农业学报*, 27(1): 57–61.]
- Zhu JL, Wang GL, Liu J, Zhang ZH, 2008. The protective enzyme activities of the larva of *Aproaerema anthylidella* Hübner infected by *Emericella quadrilineata* Dh strain. *Acta Agrestia Sinica*, 16(2): 121–125. [朱建兰, 王国利, 刘谨, 张自和, 2008. 四脊裸胞壳 Dh 菌株侵染对钩麦蛾幼虫体内保护酶的影响. *草地学报*, 16(2): 121–125.]
- Zhu L, Gu DX, 2000. The adaptive strategies of insects to plant allelochemicals. *Chinese Journal of Ecology*, 19(3): 36–45. [朱麟, 古德祥, 2000. 昆虫对植物次生性物质的适应策略. *生态学杂志*, 19(3): 36–45.]