水稻条纹叶枯病毒对灰飞虱生物学特性及若干生理生化特性的影响*

贺 康[1, 2**] 郭金梦[1] 李 飞[2] 林克剑[1***] 王桂荣[1]

（1. 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；
2. 南京农业大学植物保护学院，南京 210095）

摘 要 **【目的】** 为明确水稻条纹叶枯病毒（Rice stripe virus，RSV）侵染对灰飞虱 *Laodelphax striatellus*（Fallén）生长发育的影响，本文比较研究了带毒与无毒灰飞虱发育历期及寿命、卵巢发育及体内相关酶活力等生物学特征和生理生化指标间的差异。**【方法】** 利用单管饲养法，比较分析了带毒与无毒灰飞虱若虫历期与成虫寿命；通过解剖灰飞虱卵巢，观察并统计不同卵子级别与数量，研究携带 RSV 病毒对灰飞虱卵巢发育的影响；利用多种酶活力测定方法，比较带毒与无毒灰飞虱若虫期 5 种相关酶活力的差异。**【结果】** 无毒灰飞虱雌、雄若虫历期分别为（16.30 ± 0.33）d 和（15.62 ± 0.21）d；带毒灰飞虱雌、雄若虫历期分别为（19.08 ± 0.43） d 和（18.50 ± 0.58） d，表明 RSV 侵染显著延缓了灰飞虱若虫的生长发育（*t*-test，$P < 0.001$）；而无毒灰飞虱雌、雄成虫寿命分别为（10.74 ± 0.81）d 和（14.46 ± 1.34）d；带毒灰飞虱雌、雄成虫寿命分别为（9.09 ± 1.27）d 和（13.55 ± 2.38）d，表明 RSV 侵染对灰飞虱成虫发育没有显著影响。解剖羽化后的灰飞虱卵巢经统计分析后，发现 RSV 侵染后灰飞虱的卵巢发育及卵子发生并未受到明显影响。对发育至 3 龄若虫后 12、24、120 h 的无毒与带毒灰飞虱进行相关的酶活力测定，包括保护酶系超氧化物歧化酶 SOD、过氧化物酶 POD、过氧化氢酶 CAT、解毒酶系谷胱甘肽-*S* 转移酶 GST 和乙酰胆碱酯酶 AchE，发现 RSV 侵染对灰飞虱体内相关生化酶活力大小无明显影响，但可改变酶活力的变化趋势。**【结论】** RSV 侵染显著延长灰飞虱若虫发育历期，但对成虫的寿命和卵巢发育无明显影响，对体内保护、解毒等相关代谢酶活力大小没有显著影响，但却可以改变酶活力的变化趋势，推测 RSV 与灰飞虱不存在典型的互惠互利关系。

关键词 灰飞虱，水稻条纹叶枯病毒，寿命，卵巢发育，酶活力

Impact of the rice stripe virus (RSV) on the biological, physiological and biochemical characteristics of the small brown planthopper, *Laodelphax striatellus* (Hemiptera: Delphacidae)

HE Kang[1, 2**] GUO Jin-Meng[1] LI Fei[2] LIN Ke-Jian[1***] WANG Gui-Rong[1]

(1. State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 2. College of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract **[Objectives]** To investigate how infection with the rice stripe virus affects biological characteristics of *Laodelphax striatellus* Fallén, including development, ovarian development and enzyme activity. **[Methods]** The single-tube rearing method was used to measure the duration of the developmental period, nymph period, and adult longevity, of the small planthopper (SBPH). Enzyme activity assays were used to compare the activity of five physiological protection and detoxification enzymes in nymphs and adults, and the effect of RSV infection on ovarian development was studied by counting the number of eggs in infected and uninfected females. **[Results]** The uninfected female and male nymph periods were

*资助项目 Supported projects：国家自然科学基金项目（31272042）

**第一作者 First author，E-mail：hekang8827@foxmail.com

***通讯作者 Corresponding author，E-mail：linkejian@caas.cn

收稿日期 Received：2017-05-23，接受日期 Accepted：2017-08-10

(16.30 ± 0.33) days and (15.62 ± 0.21) days, respectively, compared to (19.08 ± 0.43) days and (18.50 ± 0.58) days, respectively for infected female and male nymphs. A paired *t*-test indicates that RSV infection significantly prolonged the duration of the nymph period ($P < 0.001$). The longevity of uninfected female and male adults was (10.74 ± 0.81) days and (14.46 ± 1.34) days, respectively, compared to (9.09 ± 1.27) days and (13.55 ± 2.38) days for infected female and male adults. Results of a paired *t*-test indicate that RSV infection did not significantly affect adult development ($P > 0.05$). Ovarian development and oogenesis were not significantly affected by infection with RSV. Activity assays for protective enzymes, including superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT) and detoxification enzyme glutathione *S*-transferase (GST) and acetylcholinesterase (AChE), were carried out on infected and uninfected 3rd instar nymphs at 12, 24 and 120 hours. The results indicate that RSV infection does not significantly affect enzyme activity other than causing slight variation in trends of enzyme activity over time. **[Conclusion]** RSV affects the development of SBPH nymphs, but not other biological characteristics of the SBPH, such as immune system and ovarian development. In addition to prolonging the duration of the nymph period and slightly affecting variation in the trend of enzyme activity, there is no obvious reciprocal and mutually beneficial relationship between the SBPH and the RSV.

Key words *Laodelphax striatellus*, rice stripe virus (RSV), longevity, ovary development,enzyme activity

水稻条纹叶枯病是水稻重要病害之一，因其危害性严重一度被称为水稻的“癌症”，而该病的发生依赖于灰飞虱 *Laodelphax striatellus* 携带并传播水稻条纹叶枯病毒（Rice stripe virus，RSV）（Wfalk and Htsai，2003；周益军等，2012；Cho *et al.*，2013； He *et al.*，2016）。灰飞虱可以通过取食（唾液传播）和繁殖（经卵传播）进行水平和垂直传播扩散 RSV 病毒，造成病害大流行（Toriyama，1986；Hibino，1996；Zhao *et al.*，2016a）。有研究表明，携带 RSV 病毒后，子代灰飞虱卵的发育受损、孵化率显著下降（Li *et al.*，2015），但雌成虫体重增加、取食过程中韧皮部刺吸时间的增加似乎弥补了 RSV 侵染对其造成的负面影响（Wan *et al.*，2015）。灰飞虱若虫期相对于成虫期具有较高的传毒效率（周益军等，2012；Zhao *et al.*，2016b），推测 RSV 与灰飞虱在若虫期存在较强的相互作用。褐飞虱 *Nilaparvata lugens* （Stål）、白背飞虱 *Sogatella furcifera* （Horváth）在受到水稻黑条矮缩病毒（Rice black streaked dwarf virus，RBSDV）侵染后，相关的保护酶及解毒代谢酶活力显著提高，表明病毒侵染可能会改变宿主体内的代谢过程并对于宿主的免疫系统存在一定的影响（He *et al.*，2012；Xu *et al.*，2014）。植物病毒与昆虫介体经过长期的协同进化，两者间的关系变得复杂和多样，且因物种不同而表现为互惠互利、中性或者相互拮抗的关系（Castle *et al.*， 1998 ； McMenemy *et al.*， 2012 ； Carmo-Sousa *et al.*，2014）。

为了系统证实RSV浸染对灰飞虱生长发育、卵巢（卵子）发育及体内生理生化过程的影响，分析 RSV 与传播介体的互作关系，本文重点比较研究带毒与无毒灰飞虱间发育寿命、卵巢发育以及体内保护酶和解毒代谢相关酶活力等重要生物学特征和生理生化指标的差异，为深入研究 RSV 与灰飞虱间的互作关系及其机制提供了科学数据，为实现控虫防病目标奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 供试植物与昆虫

水稻：用于饲养维持灰飞虱种群的水稻品种为武育粳 3 号；感染条纹叶枯病毒发病的水稻采自河南省原阳市发病水稻田块，转移至温室笼罩内培育并接入带毒灰飞虱以强化种群毒力，待灰飞虱维持一定带毒率（>50%）后，强化毒苗换为带毒灰飞虱取食后有明显发病症状的水稻苗。

灰飞虱：普通灰飞虱种群采集于南京市郊稻田，在室内用土培法培养的三叶期水稻幼苗饲养，每半月更换一次稻苗，培养条件：(26 ± 2) ℃，湿度 80% ± 5%，光照周期 14L∶10D，光照 3 000 lx；高带毒灰飞虱种群（带毒率为 80%）与对照无毒

灰飞虱种群为江苏省农业科学院植物保护研究所周益军研究员课题组馈赠，两个种群的灰飞虱分别饲养于覆有 120 目尼龙纱网的 1 L 烧杯中，饲养条件同普通灰飞虱种群。

1.2　试剂及来源

RNA 提取试剂 TRIzol® Reagent 购于 Invitrogen 公司；反转录试剂盒 RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit 购于 Thermo Fisher 公司；PCR 所用 Ex Taq® DNA polymerase 购于大连 TaKaRa 宝生物公司；连接试剂盒 pEASY® T3 Cloning Kit、胶回收试剂盒 EasyPure® Quick Gel Extraction Kit 购于北京全式金生物公司；质粒小提试剂盒 TIANprep Mini Plasmid Kit 购于北京天根生化科技有限公司；过氧化氢酶测试盒、超氧化物歧化酶测定试剂盒、过氧化物酶测试盒、谷胱甘肽-*S* 转移酶测定试剂盒、乙酰胆碱酯酶测试盒购于南京建成生物工程研究所公司；PCR 引物由生物工程（上海）股份有限公司合成；测序由深圳华大基因科技有限公司（BGI）完成。

1.3　带毒率检测与带毒灰飞虱种群维持

用自制吸虫器装置收集灰飞虱 40 头于 1.5 mL Axygen 进口离心管中，每管 1 头飞虱和 3 个氧化锆珠（经 180 ℃烘干 4 h），加入 500 μL TRIzol 试剂后盖紧，并固定于研磨仪 TissueLyser II，同时设置参数频率=28 Hz，时间=1 min 充分磨碎组织后，提取单头灰飞虱 RNA；利用液氮速冻后的研钵来研磨发病水稻叶片组织，提取发病水稻叶片 RNA。提取的 RNA 经第 1 链 cDNA 合成后，即进行 RT-PCR 反应。RT-PCR 所用引物见表 1，扩增条件：94 ℃预变性 3 min，94 ℃变性 30 s，58 ℃退火 30 s，72 ℃延伸 30 s，32 个循环。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳检测并经胶回收测序以确定灰飞虱及水稻带毒情况（图 1）。利用该检测体系每隔一个月检测灰飞虱带毒情况，单对饲养，RT-PCR 检测母本是否带毒，保留带毒灰飞虱母本后代个体，从而维持飞虱带毒率在 50% 以上。

1.4　RSV 侵染对灰飞虱发育寿命的影响

采用灰飞虱单头饲养法（陈爱玲等，2013），利用自制吸虫器吸取刚孵化出的带毒与无毒灰飞虱各 200 头，小心转移至三叶期水稻幼苗（单株水稻幼苗放在一个长约 8 cm，直径 2.5 cm 的指型玻璃管中，并用棉塞塞好），保证单管单苗单虫。每天观察灰飞虱蜕皮情况，直至其羽化发育成成虫，记录若虫历期；成虫寿命从羽化当天开始观察直至其死亡。在单管单苗单虫饲养过程中，需注意稻苗保持水分，每周更换一次以保证灰飞虱有充足的营养维持其发育。

1.5　RSV 侵染对灰飞虱卵巢发育的影响

采用培养液法单管饲养灰飞虱所采用装置是改造的一次性透明塑料杯子。预先在杯底铺一层吸水纸，并用培养液润湿，用镊子缓慢取 2 株

表 1　RT-PCR 检测所用到的引物
Table 1　Primers used for RT-PCR detection

基因 Gene	引物 （5′-3′） Primer	产物大小（bp） Product size	参考序列 Reference sequence
RSV *CP*	TCTGCCATCTTCCTTCTTC	392	AM397834
	ATGCCAATGCTATCACACT		
RSV *RdRp*	CCAGTGGAAGACTGTGAATCCATATCC	445	D31879
	GAGAGCGCCTGTTATCTATTATCTCC		
LsActin	GCCCATCTACGAAGGTTAC	194	AY192151
	CCATTTCCTGTTCGAAGTCCAG		
OsUBQ5	CTCGCCGACTACAACATCC	460	AK061988
	AGGGCATCACAATCTTCACA		

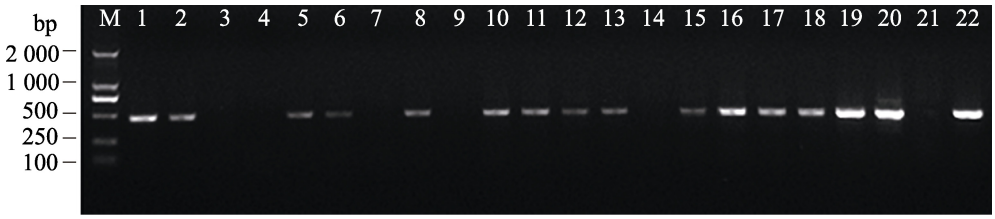


图 1 RT-PCR 检测灰飞虱及水稻携带的水稻条纹病毒

Fig. 1 Detection rice stripe virus（RSV）in SBPH and rice plant by RT-PCR

M 为 DNA marker（DL2000）；泳道 1-18 为单头灰飞虱样品中 RSV *RdR*p 基因检测情况；19-22 为水稻样品中 RSV *RdRp* 基因检测情况。

M: DNA marker; Lane 1-18: RSV gene *RdRp* detected in samples of small brown planthopper; Lane 19-22: RSV gene *RdRp* detected in samples of rice plant.

水稻幼苗转移至杯中，覆以 15 cm×15 cm 规格的 120 目尼龙纱网，并用橡皮筋扎好。用自制吸虫器吸取单只 4 龄灰飞虱若虫饲养在健苗上，并用移液器加入 2 mL 水稻培养液，每天观察直至灰飞虱羽化，期间保证稻苗水分充足，分别在羽化后的第 1、2、4、6、8、10 d 解剖灰飞虱卵巢，每个处理设 6-8 个重复，同时以不带毒灰飞虱为对照。

灰飞虱卵巢解剖方法：将灰飞虱雌虫放在冰上麻醉 1 min，移至载玻片中间，在视野中找到灰飞虱，用解剖针迅速插入飞虱胸部，挑下头、胸及翅，只保留腹部在载玻片上，滴一滴 1× PBS 缓冲液（137 mmol·L^{-1} NaCl；2.68 mmol·L^{-1} KCl；1.47 mmol·L^{-1} KH_2PO_4；8.10 mmol·L^{-1} Na_2HPO_4，pH 7.0），可以看到血腔内淡黄色血淋巴及脂肪粒流出，左右两根解剖针抵住腹部边缘，互相配合，慢慢扯去腹板、背板、中肠、后肠、马氏管等组织，最后只保留产卵瓣与卵巢相连，刚开始发育的卵巢透明并与体壁结合较紧，而发育成熟的卵极易从卵巢小管脱落，解剖过程动作须尽量轻盈；用 1×PBS 缓冲液清洗 3 次，洗去脂肪颗粒，在载玻片干净的处重新滴 1 滴 1× PBS 缓冲液，用昆虫针将卵巢挑至其上，4%甲醛固定 2 min 后再用 0.2% Triton-X 100 洗 3 次，并在荧光体式显微镜 SZX16 观察拍照并记录卵巢中的卵子发育等级及相应的个数（徐秀媛和丁锦华，1990；Dong *et al.*，2011）。

灰飞虱卵巢中卵子分级方法参考褐飞虱（芦芳等，2011）：根据卵内营养物质的比例，将灰飞虱卵子分为 5 个等级：Ⅰ级：卵内没有卵黄物质；Ⅱ 级：内卵黄物质少于卵体积的 50%；Ⅲ级：卵内卵黄物质超过卵体积的 50%，但没有充满整个体积；Ⅳ级：卵内充满卵黄，并呈椭圆形；Ⅴ级：卵呈现长茄子状，菌胞可见。

1.6 RSV 侵染对灰飞虱体内保护酶和解毒代谢酶活力的影响

选取带毒和无毒灰飞虱两个种群的若虫发育至 3 龄 12、24、120 h 为取样时间点，试虫 10 头为一个处理，重复 3 次。组织匀浆的制备参照试剂盒说明，并参照如下方法（He *et al.*，2012）：将各样品分别倒入 1 mL 玻璃匀浆器中，用移液器加入 200 μL 匀浆介质，冰上充分研磨直至磨碎。制备好的匀浆用低温离心机 2 000 r/min 离心 15 min，保留上清作为原始酶液。

采用 Bradford 法测定可溶性蛋白含量（Bradford，1976），以 1× PBS 缓冲液溶解的牛血清蛋白（BSA）为标准品，浓度梯度设置为 0.01、0.02、0.04、0.08、0.1 mg/mL，等体积与 Bradford 试剂（考马斯亮蓝 G-250 染液）混合，测定 595 nm 处的吸收值，建立 BSA 标准曲线（y = 2.6583x + 0.7464，R^2 = 0.995 5），原始酶液中的蛋白质含量可根据标准曲线求出。获得的原始酶液稀释 20 倍后进行之后的酶活力检测，操作步骤依据试剂盒说明书。

1.7 数据处理

试验数据若为成对分组间差异显著性分析采用 SPSS Statics 22.0（SPSS Inc.，Chicago，IL，

USA）Student *t*-test 分析，多个分组间差异显著性分析采用单因素方差分析。处理结果均以平均值±标准误（Mean ± SE）表示。

2　结果与分析

2.1　RSV 侵染对灰飞虱寿命的影响

灰飞虱若虫的发育历期统计结果显示(图 2：A)，无毒雌若虫发育历期为（16.30 ± 0.33） d，雄若虫为（15.62 ± 0.21） d；而带毒雌若虫历期为（19.08 ± 0.43） d，雄若虫为（18.50 ± 0.58） d。成对 *t*-检验表明，RSV 侵染可显著延长灰飞虱若虫历期（雌虫：$F = 2.135$，$df = 93$，$P < 0.001$；雄虫：$F = 0.696$，$df = 122$，$P < 0.001$）。

灰飞虱成虫的寿命统计分析表明(图 2 :B)，无毒雌成虫寿命为（10.74 ± 0.81） d；雄成虫为（14.46 ± 1.34） d；而带毒雌成虫寿命为（9.09 ± 1.27）d，雄成虫为（13.55 ± 2.38） d。成对 *t*-检验表明，RSV 侵染对灰飞虱成虫寿命没有显著影响（雌虫：$F = 0.088$，$df = 70$，$P = 0.273$；雄虫：$F = 7.765$，$df = 33$，$P = 0.734$）。

2.2　RSV 侵染对灰飞虱卵巢发育的影响

灰飞虱羽化后，通过解剖卵巢发现随着卵巢卵子内卵黄的不断积累，成熟卵的个数与所占比例逐渐增加（图 3），羽化后第 4 天成熟卵的比例达到最大（52.6%），此时每对卵巢内存在的卵子数目亦最多，灰飞虱雌虫腹部膨大，即“大肚子”虫，可为之后的产卵做准备。比较无毒灰飞虱卵巢和带毒灰飞虱卵巢从形态上很难发现二者有显著区别。而通过将卵巢的卵子进行分级鉴定并统计处于不同阶段的卵子所占比例（图 4）发现在羽化后第 1 天，卵巢内Ⅰ级卵子数目所占比例最大（40%以上），之后有所下降，并在第 4 天达到最低，第 6 天又开始回升，类似的情况也发生在Ⅱ级、Ⅲ级卵子，并且Ⅰ级卵子比例从羽化后第 1 天至第 10 天一直具有较高的比重（超过 20%，第 4 天除外），成对比较 *t*-test 检测后带毒种群与无毒种群Ⅰ级、Ⅱ级、Ⅲ级卵子所占比例不存在显著差异（$P > 0.05$）；从羽化后第 2 天开始卵巢内开始大量出现Ⅳ卵子，至第 10 天，该级别卵子所占比例一直维持在至少 20%的水平，比较带毒与无毒灰飞虱卵巢内的Ⅳ级卵子比例，二者间亦不存在显著差异，但是发育趋势有所不同，带毒灰飞虱卵巢内Ⅳ级卵子数目随时间缓慢增加，而无毒灰飞虱Ⅳ级卵子随时间呈“V”型变化，即第 6–8 天Ⅳ级卵子比例最低；Ⅴ级卵子，即成熟卵子在灰飞虱羽化后第 2 天开始出现，羽化后第 4 天大量出现（约占 50%），之后所占比例开始下降至 20%，无毒与带毒灰飞虱卵巢之间Ⅴ级卵子所占比例除了羽化后第 6 天存在显著差异（$P < 0.05$）外，其他各组对比不存在显著差异。

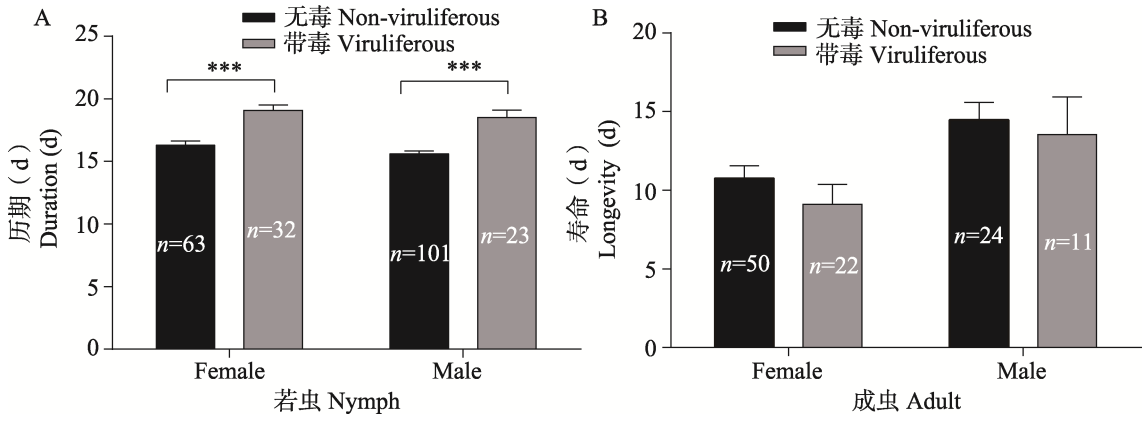


图 2　RSV 侵染对灰飞虱若虫历期（A）及成虫寿命（B）的影响

Fig. 2　Impact of RSV infection on the nymph duration (A) and adult longevity (B) of small brown planthopper

图中柱子内的 *n* 代表样本数，***代表极显著差异（$P < 0.001$）。

Letter *n* in the column represents sample number and triple asterisks stands for the significant difference ($P < 0.001$).

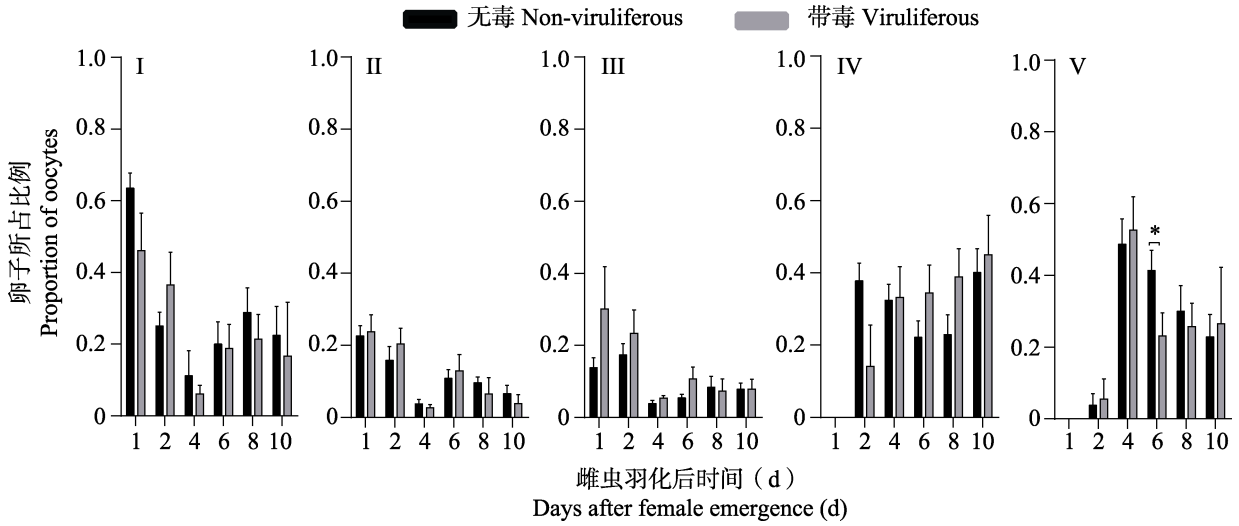


图 3　无毒与带毒雌虫羽化后卵巢发育进度比较

Fig. 3　Ovary grade comparison of small brown planthopper after emergency between the non-viruliferous and viruliferous population

图中各处理设置为 6-8 个样本重复（n=6-8），*代表显著差异（$P < 0.05$）。

Six to eight replicates are set in each treatment, and asterisk stands for the significant difference ($P < 0.05$).

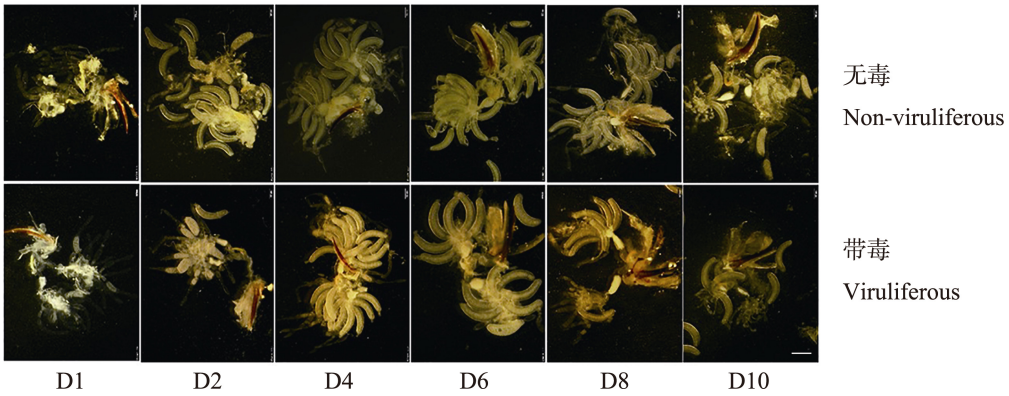


图 4　灰飞虱各等级卵巢形态比较

Fig. 4　Ovary morphologic comparison in different grades during small brown planthopper development

图中 D1-D10 分别代表第 1，第 2，第 4，第 6，第 8 和第 10 天；白色短线代表 100 μm。

D1-D10 strand for day 1, 2, 4, 6, 8, 10, respectively. White scale bar=100 μm.

2.3　RSV 侵染对灰飞虱保护酶及解毒代谢酶活力的影响

利用酶活力测定试剂盒，测定带毒与无毒灰飞虱种群若虫体内保护酶系超氧化物歧化酶 SOD，过氧化物酶 POD 和过氧化氢酶 CAT 以及解毒酶系谷胱甘肽-*S* 转移酶 GST，乙酰胆碱酯酶 AchE 的酶活力如图 5 所示，通过成对比较，发现进入 3 龄后，虽然携带 RSV 病毒对灰飞虱保护酶活力和解毒酶活力不存在显著影响，但是随着发育的进行，这些酶活力在带毒与无毒种群中却呈现不同的变化趋势。具体表现为 3 种形式：首先是先升后降（带毒）-先降后升（无毒），带毒灰飞虱在进入 3 龄若虫 24 h 时，SOD、POD 和 GSTs 酶活力分别达到峰值（44.00、31.92、295.78 U/mgprot），而此时无毒灰飞虱对应的酶活力分别达到最低（26.38、9.95、90.77 U/mgprot）；其次是先升后降（带毒）-持续下降，带毒灰飞虱 CAT 酶活力在 3 龄若虫 24 h 达到到峰值（48.56 U/mgprot），而在无毒灰飞虱 CAT 酶活力在 3 龄若虫 12 h 即达到峰值（54.26 U/mgprot）；

最后是持续上升（带毒）-持续下降（无毒），在 3 龄若虫 12 h 至 120 h 之间，带毒灰飞虱 AChE 酶活力从 0.41 U/mgprot 上升至 0.60 U/mgprot，而在无毒灰飞虱若虫在此期间 AChE 酶活力从 0.58 U/mgprot 下降至 0.37 U/mgprot。

3　讨论

自然界中 80%的植物病毒是由昆虫介体传播的（Hohn，2007；Hogenhout *et al.*，2008；施艳等，2013）。植物病毒与昆虫介体的互作关系复杂多样，病毒侵染的昆虫介体会直接影响植物与病毒间的相互作用，而感染病毒的植物又影响昆虫介体的繁殖力、适生性、取食行为等种群生物学特性，植物-病毒-昆虫三者的互作关系最终会影响病害的发生流行（Stout *et al.*，2006；Ingwell *et al.*，2012；Gutiérrez *et al.*，2013）。通过控制灰飞虱，截断病毒传播桥梁是当前被科学家广泛认可和经实践检验的最有效的水稻条纹叶枯病防治方法。本文重点关注 RSV 浸染对灰飞虱生长发育、卵巢（卵子）发育及体内生理生化过程的影响，为更好的实现防虫控病提供理论依据。

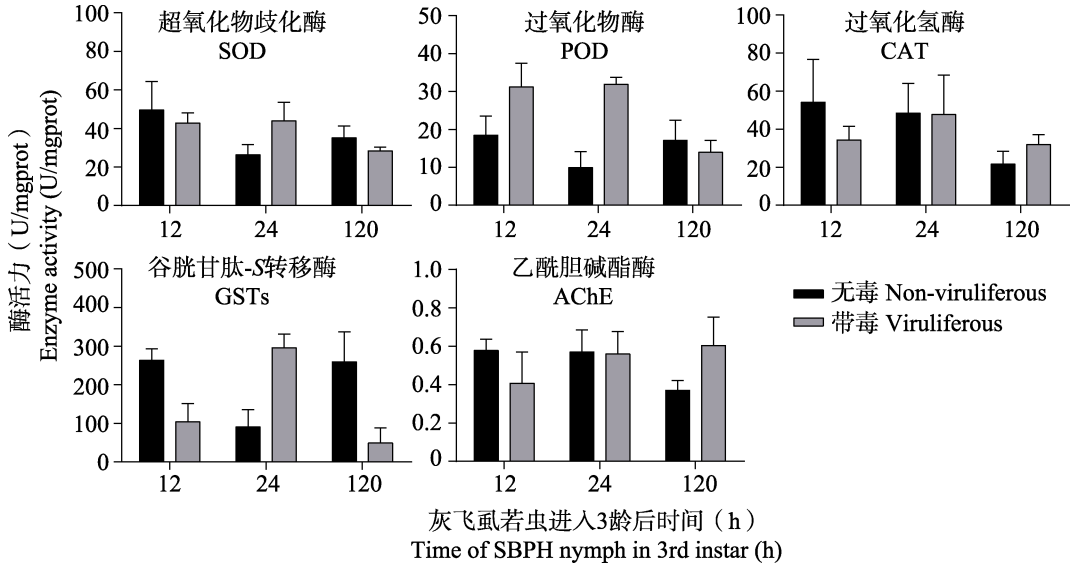


图 5　RSV 侵染后灰飞虱若虫体内保护酶和解毒代谢酶活力比较

Fig. 5　Comparison activity of protective enzyme and detoxification enzyme in nymph of small brown planthopper

图中各处理设置为 3 个样本重复（n=3）。

Three replicates are set in each treatment.

研究结果表明 RSV 除了对灰飞虱若虫历期有显著影响外，对其他方面特征和指标的影响不显著。灰飞虱若虫对于 RSV 传播比较有利，传毒效率较高，延长了若虫历期意味着灰飞虱取食更多的水稻，极大增加 RSV 侵染率，从而促进病毒的扩散传播。灰飞虱成虫期相对时间比较短，主要任务是交配产卵，通过卵巢解剖和卵子等级鉴定发现，RSV 侵染对灰飞虱卵巢及卵子发育没有明显影响，这与之前中国番茄黄化曲叶病毒（Tomato yellow leaf curl China virus，TYLCCNV）明显改变媒介昆虫烟粉虱的生殖力以及卵巢发育不同，有可能是病毒特异性所致（Jiu *et al.*，2007；Guo *et al.*，2010）。通过比较生命表参数发现携带南方黑条矮缩病毒（Southern rice black-streaked dwarf virus，SRBSDV）的白背飞虱若虫期显著延长，取食病毒侵染的水稻后，无论是否携带病毒，雌虫的产卵量均有所减少，同时无毒白背飞虱在取食病毒侵染的水稻后其寿命却显著增加，而对非介体褐飞虱没有影响（He *et al.*，2012，2014；Tu *et al.*，2013；Lei *et al.*，2014）。可以推测 SRBSDV 影响介体增强病毒侵染率方面可能要强于 RSV，但是却对介

体的种群扩张不利。

通过比较灰飞虱不同带毒率杂交组合后代的生命表参数，发现 RSV 侵染对灰飞虱的生殖力（产卵量）、存活率影响不显著，但是却可以显著降低 F_1 代孵化率，带毒雌虫组合 F_1 后代孵化时间以及若虫发育时间显著长于非带毒雌虫组合（Li *et al.*，2015）。研究发现 RSV 侵染后灰飞虱若虫发育历期显著缩短 6.69%，新羽化的雌虫体重显著增加 6.82%，生殖力方面单头雌虫产卵量减少 15.05%，同时新羽化的雌虫卵黄原蛋白 Vg 表达量下降 66.32%（Wan *et al.*，2015）。然而取食 TYLCCNV 侵染的烟草可以增加烟粉虱卵巢内成熟卵子的比例及产卵量，认为该病毒有利于 B 型入侵型烟粉虱的扩散为害（Guo *et al.*，2012）。用刺吸电位技术（EPG）研究灰飞虱取食行为时发现 RSV 侵染后的灰飞虱雌虫 N4a 波与 N4b 波持续时间则分别显著增加 32.25%、67.2%，即取食时间显著延长（Jing *et al.*，2015）。通过比较研究 RSV 侵染后灰飞虱的发育、生理及取食行为变化后，有学者提出了一种 RSV-灰飞虱-酵母类共生菌（Yeast-like symbiont，YLS）综合互作模式（Wan *et al.*，2015）。我们推断 RSV 侵染后，雌虫产卵量减少，为了补偿其对灰飞虱生殖力的消极作用，RSV 似乎刺激了 YLS 的增殖，同时取食时间延长，雌虫获得了足够的营养维持其快速生长，体重增加，RSV 亦间接地从中受益。实践证明，昆虫介体获毒与传毒过程与取食过程相伴随，病毒选择性改变介体昆虫取食行为是为了促进自身传播。

酶活力测定结果表明，与无毒灰飞虱若虫相比，进入 3 龄后，带毒灰飞虱除了 AChE 酶活力逐渐提高外，其他 4 种酶活力均呈下降趋势，然而同一时间二者酶活力大小不存在显著差异，这与取食 RBSDV 侵染的水稻可显著增强白背飞虱体内防御及解毒酶的情况有所不同（He *et al.*，2012；Xu *et al.*，2014）。我们推测经过长期协同进化，携带 RSV 的灰飞虱个体，其免疫系统可能已经适应病毒侵染对其带来的影响，亦或 RSV 侵染并不能被灰飞虱免疫系统识别，导致免疫相关的酶活力没有明显改变。为此，我们可以推测 RSV 与灰飞虱不存在典型的互惠互利关系，但是植物病毒与昆虫介体往往不是简单的互利或者对立关系，需要进一步开展深入系统研究，进行全面综合的分析和判别。

致谢：感谢江苏省农业科学院植物保护研究所周益军研究员和周彤研究员以及河南省农业科学院植物保护研究所任应党副研究员分别在高带毒灰飞虱种群纯化及发病毒苗采集过程中提供的帮助。

参考文献 (References)

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(12): 248–254.

Carmo-Sousa M, Moreno A, Garzo E, Fereres A, 2014. A non-persistently transmitted-virus induces a pull-push strategy in its aphid vector to optimize transmission and spread. *Virus Research*, 186: 38–46.

Castle SJ, Mowry TM, Berger PH, 1998. Differential settling by *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) on various virus infected host plants. *Annals of the Entomological Society of America*, 91(5): 661–667.

Chen AL, Lin KJ, HE K, Wang GR, Li F, 2013. Silencing rice stripe virus gene in *Laodelphax striatellus* (Fallén) by dsRNA feeding. *Scientia Agricultura Sinica*, 46(6): 1158–1165. [陈爱玲, 林克剑, 贺康, 王桂荣, 李飞, 2013. 灰飞虱体内水稻条纹病毒基因的 RNA 干扰效应. 中国农业科学, 46(6): 1158–1165.]

Cho WK, Lian S, Kim SM, Park SH, Kim KH, 2013. Current insights into research on rice stripe virus. *Plant Pathology Journal*, 29(3): 223–233.

Dong X, Zhai Y, Zhang J, Sun Z, Chen J, Chen J, Zhang W, 2011. Fork head transcription factor is required for ovarian mature in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål). *BMC Molecular Biology*, 12(1): 53–53.

Guo J, Dong S, Yang X, Cheng L, Wan F, Liu S, Zhou X, Ye G, 2012. Enhanced vitellogenesis in a whitefly via feeding on a begomovirus-infected plant. *PLoS ONE*, 7(8): e43567.

Guo J, Ye G, Dong S, Liu S, 2010. An invasive whitefly feeding on a virus-infected plant increased its egg production and realized fecundity. *PLoS ONE*, 5(7): e11713.

Gutiérrez S, Michalakis Y, Van Munster M, Blanc S, Biere A, 2013. Plant feeding by insect vectors can affect life cycle, population

genetics and evolution of plant viruses. *Functional Ecology*, 27(3): 610–622.

He D, Zhan J, Cheng Z, Xie L, 2016. Viruliferous rate of small brown planthopper is a good indicator of rice stripe disease epidemics. *Scientific Reports*, 6: 21376.

He X, Xu H, Zheng X, Yang Y, Gao G, Pan J, Lu Z, 2012. Ecological fitness of non-vector planthopper *Sogatella furcifera* on rice plants infected with riceblack streaked dwarf virus. *Rice Science*, 19(4): 335–338.

He X, Xu H, Gao G, Zhou X, Zheng X, Sun Y, Yang Y, Tian J, Lu Z, 2014. Virus-mediated chemical changes in rice plants impact the relationship between non-vector planthopper *Nilaparvata lugens* Stål and its egg parasitoid *Anagrus nilaparvatae* Pang et Wang. *PLoS ONE*, 9(8): e105373.

Hibino H, 1996. Biology and epidemiology of rice viruses. *Annual Review of Phytopathology*, 34(1): 249–274.

Hogenhout SA, Ammarel D, Whitfield AE, Redinbaugh MG, 2008. Insect vector interactions with persistently transmitted viruses. *Annual Review of Phytopathology*, 46(1): 327–359.

Hohn T, 2007. Plant virus transmission from the insect point of view. *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(46): 17905–17906.

Ingwell LL, Eigenbrode SD, Bosque-Perez NA, 2012. Plant viruses alter insect behavior to enhance their spread. *Scientific Reports*, 2: 578.

Jing P, Huang L, Bai S, Liu F, 2015. Effects of rice resistance on the feeding behavior and subsequent virus transmission efficiency of *Laodelphax striatellus*. *Arthropod-Plant Interactions*, 9(1): 97–105.

Jiu M, Zhou X, Tong L, Xu J, Yang X, Wan F, Liu S, 2007. Vector-virus mutualism accelerates population increase of an invasive whitefly. *PLoS ONE*, 2(1): e182.

Lei W, Liu D, Li P, Hou M, 2014. Interactive effects of southern rice black-streaked dwarf virus infection of host plant and vector on performance of the vector, *Sogatella furcifera* (Homoptera: Delphacidae). *Journal of Economic Entomology*, 107(5): 1721–1727.

Li S, Wang S, Wang X, Li X, Zi J, Ge S, Cheng Z, Zhou T, Ji Y, Deng J, Wong SM, Zhou Y, 2015. Rice stripe virus affects the viability of its vector offspring by changing developmental gene expression in embryos. *Scientific Reports*, 5: 7883.

Lu F, Qi GJ, Qin RR, Hu G, Wang Z, Zhang XX, Cheng XN, Zhai BP, 2011. The proecesses of morphological change and grading criteria for ovarian development in the brown planthopper. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 48(5): 1394–1400. [芦芳, 齐国君, 秦冉冉, 胡高, 王政, 张孝羲, 程遐年, 翟保平, 2011. 褐飞虱卵巢发育的形态变化过程及分级标准. 应用昆虫学报, 48(5): 1394–1400.]

McMenemy LS, Hartley SE, MacFarlane SA, Karley AJ, Shepherd T, Johnson SN, 2012. Raspberry viruses manipulate the behaviour of their insect vectors. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 144(1): 56–68.

Shi Y, Wang YZ, Tang QB, Yan FM, 2013. Interactions between insect vector behavior and plant virus transmission. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 50(6): 1719–172. [施艳, 王英志, 汤清波, 闫凤鸣, 2013. 昆虫介体行为与植物病毒的传播. 应用昆虫学报, 50(6): 1719–1725.]

Stout MJ, Thaler JS, Thomma BP, 2006. Plant-mediated interactions between pathogenic microorganisms and herbivorous arthropods. *Annual Review of Entomology*, 5(1): 663–689.

Toriyama S, 1986. Rice stripe virus: prototype of a new group of viruses that replicate in plants and insects. *Microbiological Sciences*, 3(11): 347–351.

Tu Z, Ling B, Xu D, Zhang M, Zhou G, 2013. Effects of southern rice black-streaked dwarf virus on the development and fecundity of its vector, *Sogatella furcifera*. *Virology Journal*, 10(1): 145–145.

Wan G, Jiang S, Wang W, Li G, Tao X, Pan W, Sword G, Chen F, 2015. Rice stripe virus counters reduced fecundity in its insect vector by modifying insect physiology, primary endosymbionts and feeding behavior. *Scientific Reports*, 5: 12527.

Wfalk B, Htsai J, 2003. Biology and molecular biology of viruses in the genus *Tenuivirus*. *Annual Review of Phytopathology*, 36(1): 139–163.

Xu H, He X, Zheng X, Yang Y, Lu Z, 2014. Influence of rice black streaked dwarf virus on the ecological fitness of non-vector planthopper *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae). *Insect Science*, 21(4): 507–514.

Xu XY, Ding JH, 1990. Structure of female reproductive system of *Laodelphax striatellus* and ovarian development ratings. *Entomological Knowledge*, 35(6): 365–366. [徐秀媛, 丁锦华, 1990. 灰飞虱雌性生殖系统的构造和卵巢发育分级. 昆虫知识, 35(6): 365–366.]

Zhao W, Lu L, Yang P, Cui N, Kang L, Cui F, 2016a. Organ-specific transcriptome response of the small brown planthopper toward rice stripe virus. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 70: 60–72.

Zhao W, Yang P, Kang L, Cui F, 2016b. Different pathogenicities of rice stripe virus from the insect vector and from viruliferous plants. *New Phytologist*, 210(1): 196–207.

Zhou YJ, Li S, Cheng ZB, Zhou T, Fan YJ, 2012. Research progress of rice stripe virus disease in China. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences,* 28(5): 1007–1015. [周益军, 李硕, 程兆榜, 周彤, 范永坚, 2012. 中国水稻条纹叶枯病研究进展. 江苏农业学报, 28(5): 1007–1015.]