

诱集植物香根草对大螟幼虫营养作用及消化酶的影响

鲁艳辉, 梁齐, 郑许松, 吕仲贤*

(浙江省农业科学院植物保护与微生物研究所/浙江省植物有害生物防控省部共建国家重点实验室培育基地, 杭州 310021)

摘要: 香根草能够有效诱集水稻害虫大螟 *Sesamia inferens* (Walker) 在其上产卵, 但孵化出的幼虫在香根草上不能完成生活史, 香根草对大螟幼虫表现出致死作用。为明确香根草对大螟幼虫致死的作用机制, 本研究分析测定了取食香根草后大螟幼虫的营养指标及体内消化酶的变化。结果表明, 取食香根草能显著影响幼虫的生长效率及体内消化酶活性。与取食水稻的幼虫相比, 取食香根草的幼虫粗生长效率 ECI 和净生长效率 ECD 显著降低; 除蔗糖酶外, 其他消化酶的活性在特定龄期呈显著下降的趋势, 具体表现为 4 龄幼虫蛋白酶比活力、2~4 龄幼虫淀粉酶比活力和 1~4 龄幼虫海藻糖酶比活力显著降低, 而 1~3 龄幼虫蔗糖酶比活力显著提高。本文为进一步阐明香根草对大螟的致死作用机制奠定了基础, 为开发以香根草为基础的稻螟绿色防控新技术提供了理论依据。

关键词: 大螟; 香根草; 营养作用; 消化酶; 诱集植物

中图分类号: S476 文献标识码: A 文章编号: 1005-9261(2017)05-0719-06

Effects of Trap Plant Vetiver Grass (*Vetiveria zizanioides*) on Nutritional and Digestive Enzyme Activities of Pink Stem Borer (*Sesamia inferens*) Larvae

LU Yanhui, LIANG Qi, ZHENG Xusong, LÜ Zhongxian*

(State Key Laboratory Breeding Base for Zhejiang Sustainable Pest and Disease Control/Institute of Plant Protection and Microbiology of Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China)

Abstract: Vetiver grass (*Vetiveria zizanioides*) can effectively attract *Sesamia inferens* to lay eggs, while the larvae can not complete their life cycles by feeding on vetiver, and vetiver exhibits a lethal effect on *S. inferens* larvae. To understand the lethal mechanism of vetiver against the larvae of *S. inferens*, we determined the nutritional and digestive enzyme activities of *S. inferens* larvae feeding on vetiver. The results indicated that vetiver affected the larval growth efficiency and digestive enzyme activities, compared to the larvae feeding on rice. ECI and ECD were significantly decreased in the larvae feeding on vetiver. Except for sucrase, activities of the other digestive enzymes were significantly decreased in some specific stages of larvae feeding on vetiver. The protease activity of the 4 instar larvae, the amylase activities of 2–4 instar larvae and the trehalase activities of 1–4 instar larvae feeding on vetiver were significantly decreased, while sucrase activity of 1–3 larvae was significantly increased compared to the larvae feeding on rice. The findings of this study lay a foundation for further elucidating the lethal mechanism of vetiver against *S. inferens*, and provide a theoretical basis for the development of sustainable control technology for *S. inferens* based on the application of trap plant vetiver in rice ecosystem.

Key words: *Sesamia inferens*; vetiver grass; nutrition; digestive enzyme; trap plant

收稿日期: 2017-02-04

基金项目: 国家重点研发计划 (2016YFD0200800); 重点实验室培育基地 (2010DS700124-ZZ1601); 国家公益性行业 (农业) 科研专项 (201303017)

作者简介: 鲁艳辉, 副研究员, E-mail: luyanhui4321@126.com; *通信作者, 研究员, E-mail: luzxmh@163.com。

DOI: 10.16409/j.cnki.2095-039x.2017.05.020

大螟 *Sesamia inferens* (Walker) 属鳞翅目 Lepidoptera 夜蛾科 Noctuidae, 是一种钻蛀性害虫, 能够取食水稻、茭白、高粱、玉米、甘蔗等数 10 种禾本科植物^[1]。大螟为害水稻在苗期可造成枯鞘、枯心, 穗期可造成枯孕穗、白穗等。但长期以来, 大螟由于食性杂等原因在水稻上一直被认为是次要害虫, 并未获得广泛重视和深入研究^[2,3]。随着水稻耕作制度改变, 尤其是杂交稻的推广, 作物布局的多样化, 以及农药亚致死剂量的选择压力等多种因素的综合作用下, 导致大螟种群数量逐年增加^[1,4], 由次要害虫上升为主要害虫, 为害从田边扩展到田块中心, 逐渐成为影响水稻安全生产的重要害虫之一^[5-8]。

长久以来, 稻田螟虫防治很大程度上仍依赖化学农药。但是, 化学农药的不合理使用, 导致螟虫抗药性不断增强, 加大了螟虫的猖獗为害。同时, 化学农药带来的农药残留超标、环境污染等问题也日益突出。目前, 以“减肥减药”为指导原则的害虫非化学防治技术已经成为当前的研究热点, 如利用香根草 *Vetiveria zizanioides* 防治水稻螟虫^[9,10]。香根草是一种多年生草本植物, 对水稻螟虫包括大螟和二化螟 *Chilo suppressalis* (Walker) 都具有较强的引诱作用, 田埂种植香根草可有效诱集水稻螟虫雌成虫在其上产卵, 减少了其对水稻的为害^[3]。同时, 香根草对二化螟幼虫还具有致死作用。鲁艳辉等^[11]的研究结果显示香根草中营养物质缺失, 进而影响二化螟体内消化酶活性, 可能是二化螟幼虫取食香根草后死亡的重要因素。另外, 香根草对大螟幼虫同样表现出致死作用。因此, 本研究对大螟幼虫取食香根草后营养指标及体内消化酶的活性变化进行了测定分析, 以明确香根草对大螟幼虫营养作用的影响, 为更好地应用香根草防治水稻大螟提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试植物

水稻品种“浙优 12 号”购自浙江省农科种业公司。将种子播种于温室塑料槽内, 约 30 d 后移栽至直径为 12 cm 的塑料盆中, 待 45 d 分蘖期时剪取茎秆用于大螟幼虫的饲喂试验。

香根草种苗购自深圳市鑫森森园林草坪有限公司。将香根草种苗种于温室, 以分蘖苗作为繁殖体, 待香根草分蘖较多时剪取茎秆用于大螟幼虫的饲喂试验。

1.2 供试昆虫

大螟种群于 2014 年 5 月采自杭州市萧山区义桥镇 (30°04' N, 120°12' E) 水稻田, 幼虫采用人工饲料饲养, 配方采用中国水稻研究所提供的大螟幼虫饲料配方^[12], 置于温度 (27±2) °C、相对湿度 (70±5) %、光周期 16L:8D 的智能人工气候室内饲养。待化蛹后将蛹收集起来, 置于养虫笼中, 保湿, 羽化后的成虫以 10% 的蜂蜜水提供营养。

1.3 香根草对幼虫营养指标的影响

选取发育一致、体重相当的 3 龄幼虫, 饥饿 3 h, 称重。然后分别用于水稻和香根草的饲喂试验 (用于饲喂的水稻茎秆和香根草茎秆称重), 饲喂 72 h 后, 称试虫鲜重, 而后将幼虫、粪便及剩余茎秆在 75 °C 烘箱中烘干, 移至硅胶干燥器中, 待温度下降至室温后分别称干重。根据以下公式计算各营养指标^[13], 取食量 = $W - a/b L$, 其中 W 为香根草茎秆初重, L 为香根草茎秆终重, a 为水稻茎秆初重, b 为水稻茎秆终重; 体重增加量 = 虫体终重 - 虫体初重; 近似消化率 AD (%) = (取食量 - 排出量) / 取食量 × 100; 粗生长效率 ECI (%) = 体重增加量 / 取食量 × 100; 净生长效率 ECD (%) = 体重增加量 / (取食量 - 排出量) × 100; 相对生长速率 (RGR) = 体重增加量 / 平均虫体重 × 测定时间; 相对消耗速率 (RCR) = 取食量 / 平均虫体重 × 测定时间。

分别选取取食香根草和水稻的 3 龄幼虫各 10 头, 经 30 min 排空后称其鲜重, 并用乙醚麻醉后放入 75 °C 的烘箱中烘干, 移至硅胶干燥器中, 待温度下降至室温后分别称干重, 根据 Montandon 等^[14]的公式 $W_D = A \cdot W_F^B$, 拟合干物质积累曲线。其中, W_D 表示试虫干重; W_F 表示试虫鲜重; A , B 分别表示拟合干物质积累曲线的系数。

选取初孵幼虫用于水稻和香根草的饲喂试验。当水稻饲喂的幼虫达 1、2、3 和 4 龄时, 分别对水稻和香根草饲喂的幼虫分别进行取样, 幼虫饥饿 3 h 后, 在液氮中速冻并立即转置 -80 °C 冰箱中保存, 供后续酶活性测定试验用。试验共重复 3 次。

1.4 香根草对大螟幼虫体内消化酶活性的影响

1.4.1 蛋白酶活性的测定 参考曹挥等^[15]的方法，将大螟幼虫放置在预冷的组织研磨器中，加入 1 mL 含 0.3% 的 Triton X-100 的 pH 7.0 PBS，充分研磨，在 12000 g/min、4 °C 离心 15 min，所得上清液作为酶源。取 20 μL 酶液，加入 50 μL 37 °C 预热的 0.5% 酪蛋白溶液，混匀后 37 °C 放置 15 min，加入 50 μL 10% 的三氯乙酸，混合后 4 °C、10000 g/min 离心 15 min，取上清液 20 μL，放入酶标板内，加入 100 μL 0.55 mol/L Na₂CO₃，20 μL Folin-酚试剂，室温放置 30 min，利用酶标仪（Infinite M200）测 OD₆₈₀。蛋白酶活性以酪氨酸标准曲线计算。

1.4.2 淀粉酶活性测定 参照张炬红等^[16]的方法测定。取 2% 的淀粉 10 μL，0.2 mol/L PBS (pH 6.0) 20 μL，酶液 10 μL（制备方法同蛋白酶），依次加入 1.5 mL 的离心管内，室温反应 10 min，37 °C 水浴 60 min，加 3,5-二硝基水杨酸 250 μL 终止反应，再沸水浴 5 min，待冷却后，从中取出 250 μL 样品加在酶标板内，用酶标仪测 OD₅₅₀。淀粉酶活性以麦芽糖标准曲线计算。

1.4.3 海藻糖酶活性测定 参考张炬红等^[16]的方法。取 3% 的海藻糖 10 μL、0.2 mol/L PBS (pH 5.5) 20 μL，酶液 10 μL（制备方法同蛋白酶），依次加入 1.5 mL 的离心管内，后续步骤同淀粉酶的测定方法一致。海藻糖酶活性以葡萄糖标准曲线计算。

1.4.4 蔗糖酶活性测定 参考张炬红等^[16]的方法。取 4% 的蔗糖 10 μL、0.2 mol/L PBS (pH 5.5) 20 μL，酶液 10 μL（制备方法同蛋白酶），依次加入 1.5 mL 的离心管内，后续步骤及酶活性计算方法同海藻糖酶。

1.5 数据统计与分析

采用 Microsoft Excel 2003 处理数据，采用 SPSS 17.0 软件进行数据的分析统计，并采用 ANOVA 和 Duncan's 多重比较进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 取食香根草对大螟营养效应的影响

大螟取食香根草后的食物消耗量和体重增加量均有所降低，但与取食水稻的无显著差异；大螟取食水稻和香根草的近似消耗率 AD、相对生长速率 RGR 及相对消耗速率 RCR 无显著差异 ($P>0.05$)；然而，与取食水稻的对照比较，取食香根草大螟幼虫的粗生长效率 ECI 和净生长效率 ECD 显著降低 ($P<0.05$)（表 1）。大螟幼虫取食香根草后干物质积累较取食水稻的幼虫变缓（图 1），可能由于取食香根草的幼虫生长期长，体重小，所以干物质积累相对较慢。

表 1 水稻和香根草对大螟幼虫的营养效应

Table 1 Nutritional effects of rice and vetiver on the 3rd instar larvae of *S. inferens*

处理 Treatments	食物消耗量 Food consumption (mg)	体重增加量 Weight gain (mg)	近似消耗率 AD (%)	粗生长效率 ECI (%)	净生长效率 ECD (%)	相对生长速率 RGR (mg/mg·d)	相对消耗速率 RCR (mg/mg·d)
水稻 Rice	258.71±29.62 a	5.21±1.18 a	90.97±2.14 a	1.93±0.39 a	2.18±0.46 a	0.10±0.03 a	4.82±0.77 a
香根草 Vetiver	218.59±48.76 a	4.95±2.58 a	90.94±1.46 a	0.35±1.66 b	0.51±1.81 b	0.08±0.03 a	3.48±0.69 a

注：表中数据为平均值±标准误，同列不同小写字母表示数据在 0.05 水平差异显著。下同。

Note: Data in the table were mean±SE, different lowercase letters in the same column indicated significant differences between *S. inferens* feeding on rice and vetiver at 0.05 level. The same below.

2.2 大螟幼虫取食香根草后体内消化酶活性

大螟在取食香根草后，4 龄幼虫体内蛋白酶比活力显著低于取食水稻的幼虫，取食水稻约为取食香根草上蛋白酶比活力的 2.2 倍，而 1~3 龄并没有表现出明显差异 ($P>0.05$)（表 2）。

随着取食时间延长和龄期的增长，取食香根草的 1 龄幼虫体内淀粉酶比活力显著高于取食水稻的 1 龄幼虫；2~4 龄幼虫则呈现相反的趋势，4 龄时，取食水稻的幼虫体内淀粉酶比活力约为取食香根草幼虫的 2.4 倍（表 3）。

取食香根草后的 1~4 龄大螟幼虫体内海藻糖酶比活力均显著低于取食水稻的海藻糖酶比活力，且在 3 龄时两者差异最显著，取食水稻的幼虫体内海藻糖酶比活力约为取食香根草上海藻糖酶比活力的 1.8 倍（表 4）。

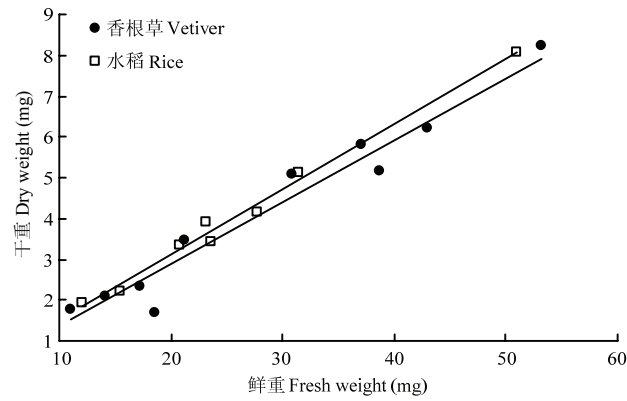


图1 大螟取食香根草和水稻的干物质积累曲线

Fig. 1 The dry matter accumulation curve of *S. inferens* feeding on rice and vetiver

表2 取食香根草后大螟幼虫体内蛋白酶比活力

Table 2 Protease specific activity of *S. inferens* after feeding on vetiver (mol/min/mg protein)

处理 Treatments	龄期 Instar			
	1	2	3	4
水稻 Rice	0.09±0.00 a	0.11±0.01 a	0.22±0.02 a	0.28±0.01 a
香根草 Vetiver	0.13±0.02 a	0.12±0.01 a	0.26±0.00 a	0.13±0.00 b

表3 取食不同寄主植物后大螟体内淀粉酶比活力

Table 3 Amylase specific activity of *S. inferens* after feeding on rice and vetiver (mol/min/mg protein)

处理 Treatments	龄期 Instar			
	1	2	3	4
水稻 Rice	3.25±0.02 b	7.29±0.05 a	5.87±0.09 a	5.40±0.05 a
香根草 Vetiver	3.57±0.03 a	4.36±0.03 b	4.94±0.12 b	2.27±0.01 b

表4 取食不同寄主植物后大螟体内海藻糖酶比活力

Table 4 Trehalase specific activity of *S. inferens* after feeding on rice and vetiver (mol/min/mg protein)

处理 Treatments	龄期 Instar			
	1	2	3	4
水稻 Rice	7.86±0.06 a	9.79±0.03 a	19.40±0.13 a	21.38±0.06 a
香根草 Vetiver	6.10±0.06 b	8.18±0.03 b	10.55±0.20 b	12.31±0.33 b

大螟在取食香根草后, 1~3 龄幼虫蔗糖酶比活力显著高于取食水稻的幼虫体内蔗糖酶比活力, 而 4 龄幼虫时无显著差异 ($P>0.05$) (表 5)。

表5 取食不同寄主植物后大螟体内蔗糖酶比活力

Table 5 Sucrase specific activity of *S. inferens* after feeding on rice and vetiver (mol/min/mg protein)

处理 Treatments	龄期 Instar			
	1	2	3	4
水稻 Rice	7.18±0.02 b	11.69±0.03 b	32.44±0.20 b	32.55±0.68 a
香根草 Vetiver	17.97±0.06 a	24.92±0.33 a	52.88±0.69 a	32.88±1.16 a

3 讨论

香根草作为诱集植物防治水稻螟虫已成为稻螟绿色防控的重要措施之一, 具有很大的开发潜力^[10,17-19]。

笔者实验室前期研究结果表明, 香根草内营养物质缺失, 单宁含量高, 从而影响二化螟体内消化酶活性的变化, 这些可能是二化螟幼虫取食香根草后致死的重要因素^[11]。为更好地应用香根草防治水稻大螟, 明确取食香根草对大螟幼虫营养作用的影响, 测定了大螟幼虫取食香根草后各营养指标及体内消化酶活性的变化。

植食性昆虫与植物在长期进化适应过程中, 形成了多种用以维持自身生存和发展的相互作用和联系^[20]。不同植物所含营养物质的质和量不同, 对植食性昆虫生长发育产生的影响也不同^[21-23]。昆虫的相对取食量、相对生长率和食物利用率等指标是探讨植食性昆虫与寄主植物相互作用关系的重要营养参数, 用以反映昆虫的生长状况、对食物的利用情况等^[24]。大螟幼虫取食香根草后的粗生长效率 (ECI) 和净生长效率 (ECD) 显著降低, 说明香根草在虫体内的滞留时间较长, 排泄速度较慢^[13], 这可能与香根草中营养物质匮乏及次生代谢物含量高有关, 进而影响了幼虫的消化功能, 造成大螟取食香根草后不能正常生长发育。因此, 进一步测定了取食香根草后对大螟幼虫消化酶的影响。结果表明, 除蔗糖酶外, 取食香根草后其他消化酶活性显著降低, 这可能由于香根草内某些成分 (如单宁等) 与消化酶结合, 抑制了消化酶活性, 影响了其正常生理功能, 进而阻碍了昆虫对营养成分的吸收^[11]。关于不同寄主植物对昆虫消化酶影响的研究也有许多类似报道, 如王倩倩等^[24]发现草地螟 *Loxostege sticticalis* 幼虫取食藜、大豆和向日葵较取食玉米、马铃薯的中肠消化酶活性更强, 且取食不同寄主植物后中肠消化酶会随着取食时间的延长, 酶含量会发生显著变化。张娜等^[25]的研究结果表明, 取食甜菜的甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 幼虫体内淀粉酶比活力显著高于取食玉米、黄瓜。取食复叶槭的光肩星天牛 *Anoplophora glabripennis* 消化道的淀粉酶活性高于取食白蜡^[26]。烟粉虱取食不同寄主植物影响了海藻糖酶和蔗糖酶的比活力^[27]。

总之, 香根草营养物质匮乏进而影响了幼虫的生长效率及体内消化酶活性, 这可能是大螟不能正常生长发育的重要因素。此结果为进一步阐明香根草对大螟的致死作用机制奠定了基础, 为开发以香根草为基础的稻螟绿色防控新技术提供了理论依据。

参 考 文 献

- [1] 赵钧, 付文曦, 韩召军. 大螟对 7 种杀虫剂的抗药性监测及相对敏感基线验证[J]. 南京农业大学学报, 2016, 39(1): 84-88.
- [2] Midega C A O, Khan Z R, Pickett J A, et al. Host plant selection behaviour of *Chilo partellus* and its implication for effectiveness of a trap crop[J]. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 2011, 138(1): 40-47.
- [3] 梁齐, 鲁艳辉, 王国荣, 等. 寄主植物喷药对大螟产卵选择性的影响[J]. 植物保护学报, 2017, 44(1): 39-44.
- [4] 陈晓娟, 卢代华. 多食性害虫大螟发生与防治研究进展[J]. 中国农学通报, 2015, 31(25): 171-175.
- [5] 吴和生, 王宏庆, 姜海洲, 等. 东台市水稻大螟回升及原因分析[J]. 植物保护, 1995, 21(1): 23.
- [6] 杨秋萍, 李瑛, 何永垠, 等. 东台市水稻螟虫发生为害新特点及防治对策[J]. 植物保护, 2002, 28(3): 53-54.
- [7] 杨廉伟, 杨坚伟, 陈将赞, 等. 单季稻大螟防治问题及氯虫苯甲酰胺对白穗防效试验[J]. 中国稻米, 2010, 16(1): 69-70.
- [8] Islam Z, Catling D. Rice pests of Bangladesh: their ecology and management[M]. Bangladesh: University Press Limited, 2013.
- [9] Aarthi N, Murugan K. Larvicidal and repellent activity of *Vetiveria zizanioides* L, *Ocimum basilicum* Linn and the microbial pesticide spinosad against malarial vector, *Anopheles stephensi* Liston (Insecta: Diptera: Culicidae)[J]. *Journal of Biopesticides*, 2010, 3(S1): 199-204.
- [10] Lu Z X, Zhu P Y, Gurr G M, et al. Rice pest management by ecological engineering: a pioneering attempt in China[M]//Heong K L, Cheng J A, Escalada M M, eds. *Rice Planthoppers: Ecology, Management, Socio-Economics and Policy*. Springer, 2015, 161-178.
- [11] 鲁艳辉, 高广春, 郑许松, 等. 诱集植物香根草对二化螟幼虫致死的作用机制[J]. 中国农业科学, 2017, 50(3): 486-495.
- [12] 傅强, 袁哲明, 戴长庚, 等. 一种大螟半人工饲料及制备方法[P]. 2013, CN 103110009 A.
- [13] 吕仲贤. 亚洲玉米螟幼虫的营养生态学[D]. 杭州: 浙江大学, 1994.
- [14] Montandon R, Stipanovic R D, Williams H J, et al. Nutritional indices and excretion of gossypol by *Alabama argillacea* (Hübner) and *Heliothis virescens* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae) fed glanded and glandless cotyledonary cotton leaves[J]. *Journal of Economic Entomology*, 1987, 80(1): 32-36.
- [15] 曹挥, 刘素琪, 赵莉茵, 等. 瑞香狼毒提取物对山楂叶螨的生物活性及酶活性影响[J]. 林业科学, 2003, 39(1): 98-102.

- [16] 张炬红, 郭建英, 万方浩, 等. 转 Bt 基因抗虫棉对棉蚜消化酶的风险评价[J]. 华北农学报, 2008, 23(S): 238-242.
- [17] 夏岳章, 孙文岳. 香根草对水稻螟虫的诱杀及应用[J]. 浙江农业科学, 2012(12): 1693-1695, 1698.
- [18] 赵中华, 杨普云. 2011 年全国农作物病虫害绿色防控工作进展[J]. 中国植保导刊, 2012, 32(8): 16-19.
- [19] 陈桂华, 朱平阳, 郑许松, 等. 应用生态工程控制水稻害虫技术在金华的实践[J]. 中国植保导刊, 2016, 36(1): 31-36.
- [20] 张树义. 热带雨林中的动植物协同进化[J]. 大自然探索, 2005(10): 51-53.
- [21] 杨雪彦, 燕新华, 周晓彬. 不同杨树营养物质对黄斑星天牛抗性的研究[J]. 西北林学院学报, 1992, 7(3): 26-33.
- [22] 黄金水, 丁琰, 黄衍庆, 等. 木麻黄化学和形态因素与星天牛危害的关系[J]. 林业科学, 1999, 35(2): 57-64.
- [23] 张凤娟, 金幼菊, 陈华君, 等. 光肩星天牛对 4 种不同槭树科寄主植物的选择机制[J]. 生态学报, 2006, 26(3): 870-877.
- [24] 王倩倩, 王蕾, 李克斌, 等. 不同寄主植物对草地螟的营养作用及消化酶的影响[J]. 植物保护, 2015, 41(4): 46-51.
- [25] 张娜, 郭建英, 万方浩, 等. 寄主植物对甜菜夜蛾生长发育和消化酶活性的影响[J]. 植物保护学报, 2009, 36(2): 146-150.
- [26] 阎雄飞, 刘娟, 刘永华. 不同寄主对光肩星天牛成虫消化酶的影响[J]. 湖北农业科学, 2012, 51(18): 4010-4013.
- [27] 周隆, 文礼章, 张友军. 不同寄主植物对烟粉虱消化酶和氨基酸代谢酶活性的影响[J]. 华中昆虫研究, 2011, 7: 38-44.