

张楠, 韩光杰, 刘琴, 等. 稻纵卷叶螟 FOXO 调控 Cu/Zn SOD 参与抗杆状病毒 CnmeGV 感染的机制[J]. 江苏农业学报, 2025, 41(12): 2334-2340.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2025.12.006

稻纵卷叶螟 FOXO 调控 Cu/Zn SOD 参与抗杆状病毒 CnmeGV 感染的机制

张楠¹, 韩光杰¹, 刘琴¹, 李传明¹, 林曼曼¹, 祁建杭², 陆玉荣¹, 夏杨¹, 徐健¹
(1.江苏里下河地区农业科学研究所/国家农业微生物扬州观测实验站, 江苏扬州 225007; 2.扬州绿源生物化工有限公司, 江苏扬州 225008)

摘要: 为阐明稻纵卷叶螟 (*Cnaphalocrocis medinalis*) 对稻纵卷叶螟颗粒体病毒 (*C. medinalis* granulovirus, CnmeGV) 的抵抗机制, 本研究分析了稻纵卷叶螟转录因子 FOXO 和铜/锌超氧化物歧化酶 (Copper/zinc superoxide dismutase, Cu/Zn SOD) 对 CnmeGV 感染的响应机制。结果表明, 稻纵卷叶螟幼虫脂肪体中 Cu/Zn SOD 表达水平高于血淋巴、中肠和马氏管等组织; CnmeGV 感染后 6~48 h, 稻纵卷叶螟脂肪体中超氧化物歧化酶活性显著增加, FOXO 和 Cu/Zn SOD 基因 mRNA 表达水平均显著上调, 且抗氧化剂 N-乙酰半胱氨酸 (NAC) 能抑制上调水平。FOXO 抑制剂 AS1842856 和 SOD 抑制剂 LCS-1 都能显著增强病毒 DNA 复制水平, 提高 CnmeGV 感染幼虫的死亡率。上述结果说明, FOXO 和 Cu/Zn SOD 基因的激活程度依赖于氧化应激水平, FOXO 和 Cu/Zn SOD 基因在稻纵卷叶螟幼虫的抗病毒防御中起到关键作用。此外, FOXO 抑制剂还能显著削弱病毒感染对 Cu/Zn SOD 转录的诱导水平, 且在 Cu/Zn SOD 基因启动子区鉴定出多个 FOXO 结合位点, 说明 FOXO 能直接调控 Cu/Zn SOD 的表达。本研究结果为稻纵卷叶螟防治、昆虫与病毒互作机制研究提供了新方法。

关键词: 稻纵卷叶螟; 稻纵卷叶螟颗粒体病毒; 氧化应激; FOXO 转录因子; 铜/锌超氧化物歧化酶

中图分类号: S435.112⁺.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2025)12-2334-07

Mechanism by which *Cnaphalocrocis medinalis* FOXO regulates Cu/Zn SOD to mediate resistance to CnmeGV infection

ZHANG Nan¹, HAN Guangjie¹, LIU Qin¹, LI Chuanming¹, LIN Manman¹, QI Jianhang²,
LU Yurong¹, XIA Yang¹, XU Jian¹

(1. Institute of Agricultural Sciences of the Lixiahe District in Jiangsu Province/National Experimental Station of Yangzhou for Agricultural Microbiology, Yangzhou 225007, China; 2. Yangzhou Luyuan Bio-chemical Co. Ltd., Yangzhou 225008, China)

Abstract: To elucidate the resistance mechanism of *Cnaphalocrocis medinalis* to *C. medinalis* granulovirus

(CnmeGV), this study analyzed the response mechanism of transcription factor FOXO and copper/zinc superoxide dismutase (Cu/Zn SOD) in *C. medinalis* to viral infection. The results showed that the expression level of Cu/Zn SOD in fat body of *C. medinalis* larvae was higher than those in hemolymph, midgut and Malpighian tube. At 6-48 h after CnmeGV infection, the activity of superoxide dismutase in the fat body of *C. medinalis* increased significantly, and the mRNA expression levels of FOXO and Cu/Zn SOD

收稿日期: 2025-08-28

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2024YFD1400700); 国家自然科学基金项目 (32302351, 32372539); 农业基础性长期性科技工作项目 (NAES069AM04); 江苏省农业科技自主创新基金项目 [CX(24)1005]

作者简介: 张楠 (1992-), 男, 江苏泗洪人, 博士, 助理研究员, 主要从事农业害虫生物防治工作。(E-mail) znfezhangnan@hotmail.com

通讯作者: 徐健, (E-mail) bio-xj@163.com

genes were significantly up-regulated, and the antioxidant N-acetylcysteine (NAC) could inhibit the up-regulation. Both FOXO inhibitor AS1842856 and SOD inhibitor LCS-1 could significantly enhance the level of viral DNA replication and increase the mortality of CnmeGV-infected larvae. The above results indicated that the activation of FOXO and Cu/Zn SOD genes depended on the level of oxidative stress, and FOXO and Cu/Zn SOD genes played key roles in the antiviral defense of *C. medinalis* larvae. In addition, FOXO inhibitors also significantly attenuated the induction level of Cu/Zn SOD transcription by viral infection, and multiple FOXO binding sites were identified in the Cu/Zn SOD promoter region, indicating that FOXO could directly regulate the expression of Cu/Zn SOD. The results of this study provide a new method for the control of *C. medinalis* and the study of insect-virus interaction mechanism.

Key words: *Cnaphalocrocis medinalis*; *Cnaphalocrocis medinalis* granulovirus; oxidative stress; transcription factor FOXO; copper/zinc superoxide dismutase (Cu/Zn SOD)

稻纵卷叶螟 (*Cnaphalocrocis medinalis*) 是水稻生长过程中主要的迁飞性害虫,其取食行为对水稻产量造成了极大的威胁^[1-2]。化学杀虫剂是防治稻纵卷叶螟的主要手段,但长期的化学杀虫剂应用已导致该害虫产生显著抗药性,因此亟须开发高效、环保的替代控制策略。在替代化学农药的防控策略中,利用对宿主杀伤力和专一性均较高的杆状病毒研制微生物杀虫剂备受关注。杆状病毒中甲型杆状病毒属病毒(又称为核型多角体病毒)和乙型杆状病毒属病毒(又称为颗粒体病毒)对虫害的防治作用已得到初步研究^[3]。稻纵卷叶螟颗粒体病毒(*Cnaphalocrocis medinalis* granulovirus, CnmeGV)虽能有效控制农田稻纵卷叶螟,但其致命时间长达约 8.4 d,在这段时期内,受感染的幼虫仍能继续取食并造成危害,因此 CnmeGV 杀虫剂的实际应用效果并不理想^[4-5]。因此,深入解析昆虫的抗病毒机制,对于缩短病毒的致死时间、增强病毒杀虫效力具有重要的意义。

病毒感染通常会诱发宿主产生氧化应激压力,导致活性氧(Reactive oxygen species, ROS)在宿主体内过度蓄积,而 ROS 的异常积累会引发宿主细胞的氧化损伤^[6-7]。与脊椎动物不同,昆虫缺乏完整的适应性免疫系统,因此在抵御病毒入侵的免疫防御体系中,昆虫的先天性免疫和抗氧化酶系统承担着更为关键的作用。Camini 等^[8]的研究结果表明,当昆虫受到病毒感染后,其体内超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)等多种抗氧化酶的表达水平会出现上调,以清除过度产生的 ROS,维持机体氧化还原平衡。Katsuma 等^[9]研究发现,杆状病毒感染后,SOD 在昆虫抗病毒防御过程中发挥重要作用。家蚕核型多角体病毒(*Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus, BmNPV)基因组中含有铜/锌超氧化物歧化酶(Cu/Zn SOD)基因,Cu/Zn SOD 基因的

缺失极大影响病毒在宿主细胞中的感染效率^[10]; Han 等^[11]研究发现,CnmeGV 感染后,稻纵卷叶螟体内锰超氧化物歧化酶(Manganese superoxide dismutase)、铜/锌超氧化物歧化酶和铁超氧化物歧化酶(iron superoxide dismutase)等多个超氧化物歧化酶的基因表达水平上调。上述研究结果表明,SOD 在昆虫的杆状病毒感染中具有重要作用,但其在分子层面的调控机制仍缺乏深入研究。

叉头框 O(Forkhead box O, FOXO)转录因子是公认的应激响应核心调控因子,在细胞凋亡、代谢和氧化应激响应等过程中发挥重要作用^[12-13]。FOXO 可以直接调控多种抗氧化酶基因的表达水平,以维持细胞氧化还原的稳态^[13]。FOXO 对昆虫病毒免疫的重要性亦得到初步研究。家蚕 FOXO 基因能通过调控磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(Phosphoenolpyruvate carboxykinase, PEPCK)活性,参与宿主对 BmNPV 的免疫反应^[14];棉铃虫 FOXO 基因能通过调控超氧化物酶 1(Peroxidase 1)的表达水平来清除核型多角体病毒感染诱导的过量 ROS^[15]。然而,目前尚无直接证据证明,昆虫 FOXO 基因能通过调控 SOD 基因来介导其抗病毒防御中的氧化应激反应。因此,本研究以稻纵卷叶螟和 CnmeGV 为材料,阐明 FOXO 和 SOD 协同响应氧化应激并参与稻纵卷叶螟抵抗杆状病毒侵染的机制,以明确昆虫-病毒相互作用分子机制,为开发能够提高病毒杀虫剂效力的新型增效剂提供潜在靶点和理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验昆虫及工作液的配制

稻纵卷叶螟成虫以 1:1 的雌雄比例配对,置于 1 000 mL 塑料杯内,在温度 28 ℃、相对湿度 80%、光照强度为 6 000 lx 的培养箱中培养产卵,在室内

用玉米幼苗培养 20 代。从 3 龄幼虫中选取健康且体形一致的个体用于试验。将实验室保存的 CnmeGV 原始包涵体 (Occlusion body, OB) 稀释至 1×10^6 OB/mL 后, 作为 CnmeGV 感染的工作液。

FOXO 抑制剂 AS1842856、SOD 抑制剂 LCS-1 及抗氧化剂 *N*-乙酰半胱氨酸 (*N*-acetylcysteine, NAC) 均购自美国 MedChemExpress 公司, 利用 10% 二甲基亚砜 (Dimethyl sulfoxide, DMSO) 溶液, 配制得到浓度为 0.5 mmol/L 的 AS1842856 溶液、0.1 mmol/L 的 LCS-1 溶液及 200 μ g/mL 的 NAC 溶液。利用 CnmeGV 原始包涵体及上述试剂配制得到 AS1842856 + CnmeGV、LCS-1 + CnmeGV、NAC + CnmeGV 混合液, 浓度和单独的试剂保持一致。

1.2 CnmeGV 感染对稻纵卷叶螟幼虫 FOXO 和 Cu/Zn SOD 表达水平的影响

取未感染 CnmeGV 的 3 龄稻纵卷叶螟幼虫 30 头, 解剖虫体, 收集中肠、脂肪体、血淋巴和马氏管等组织, 检测上述组织中 *Cu/Zn SOD* 基因 mRNA 表达水平。利用 CnmeGV 工作液、CnmeGV+NAC 混合液分别浸润玉米叶片, 晾干后分别喂食稻纵卷叶螟 3 龄幼虫, 收集喂养 6 h、12 h、24 h 和 48 h 的稻纵卷叶螟幼虫, 采集不同喂养处理的幼虫脂肪体, 利用

表 1 用于 qPCR 的引物序列

Table 1 The primer sequences for qPCR

引物名称	序列 (5' → 3')	用途
FOXOqF	CAGAACTGTCGAAACGCAA	FOXO 基因实时荧光定量反转录 PCR
FOXOqR	TGGAACACCTGTCTGTAGAGC	
Cu/Zn SOD qF	TTGCGGCCAGTTCCTATG	Cu/Zn 超氧化物歧化酶 (SOD) 基因实时荧光定量反转录 PCR
Cu/Zn SOD qR	AAACTTCGTAGACATTGCTTTGG	
β -Actin-F	ATGGTCGGCATGGGACAG	内参基因
β -Actin-R	GAGTTCATTGTAGAAGGTGT	
ORF123-qF	CTTGCAACAAGTTCGC	CnmeGV ORF123 基因定量 PCR
ORF123-qR	CCATGATGTAGTGACACG	

1.4 FOXO 和 Cu/Zn SOD 在稻纵卷叶螟抵抗 CnmeGV 感染中的作用

利用 CnmeGV 工作液、AS1842856+CnmeGV 混合液、LCS-1+ CnmeGV 混合液分别浸润玉米幼苗叶片, 自然晾干后分别用于喂食稻纵卷叶螟幼虫, 各处理设 3 次重复, 每个重复 10 头幼虫。喂食 6 h、12 h、24 h、48 h 后, 采集幼虫, 利用 DNAiso 试剂盒 (大

Trizol 试剂 (美国 Invitrogen 公司产品) 提取 RNA, 接着使用 RevertAid RT 反转录试剂盒 (美国赛默飞世尔科技有限公司产品) 将 RNA 反转录得到 cDNA, 然后根据转录组测序得到的 FOXO 和 *Cu/Zn SOD* 序列设计 PCR 引物 (表 1), 以稻纵卷叶螟 β -Actin 基因作为内参基因, 利用实时荧光定量反转录 PCR (RT-qPCR) 技术检测稻纵卷叶螟幼虫脂肪体中 FOXO 和 *Cu/Zn SOD* 的 mRNA 表达水平。参照超氧化物歧化酶活性测定试剂盒 (南京建成生物工程研究有限公司产品) 说明书, 采用 WST-1 比色法检测 CnmeGV 感染对稻纵卷叶螟幼虫脂肪体中超氧化物歧化酶 (SOD) 活性的影响。

1.3 FOXO 介导 CnmeGV 诱导的 Cu/Zn SOD 表达水平分析

利用 CnmeGV 工作液、FOXO+CnmeGV 混合液及清水分别浸润玉米叶片, 自然晾干后分别用于喂食稻纵卷叶螟幼虫, 喂食后 6 h、12 h、24 h 和 48 h, 分别采集稻纵卷叶螟幼虫。每次采集 30 头幼虫, 分 3 个重复。使用 Trizol 试剂提取幼虫 RNA 后, 以稻纵卷叶螟 β -Actin 基因为内参基因, 利用 RT-qPCR 技术检测各处理幼虫脂肪体中 *Cu/Zn SOD* 的 mRNA 表达水平。所用引物见表 1。

连 TaKaRa 生物有限公司产品) 提取 DNA, 提取的 DNA 通过定量 PCR (qPCR) 的方法检测病毒 ORF123 基因的拷贝数^[16-17]。

为排除 AS1842856 或 LCS-1 本身对稻纵卷叶螟死亡率的影响, 利用 AS1842856 溶液、LCS-1 溶液、AS1842856+ CnmeGV 混合液、LCS-1+ CnmeGV 混合液、CnmeGV 工作液及清水分别浸润玉米叶片, 自然

晾干后饲喂稻纵卷叶螟幼虫,每处理 30 头幼虫,喂食 10 d 后统计各处理幼虫死亡数量。每处理 3 次重复。

1.5 数据分析

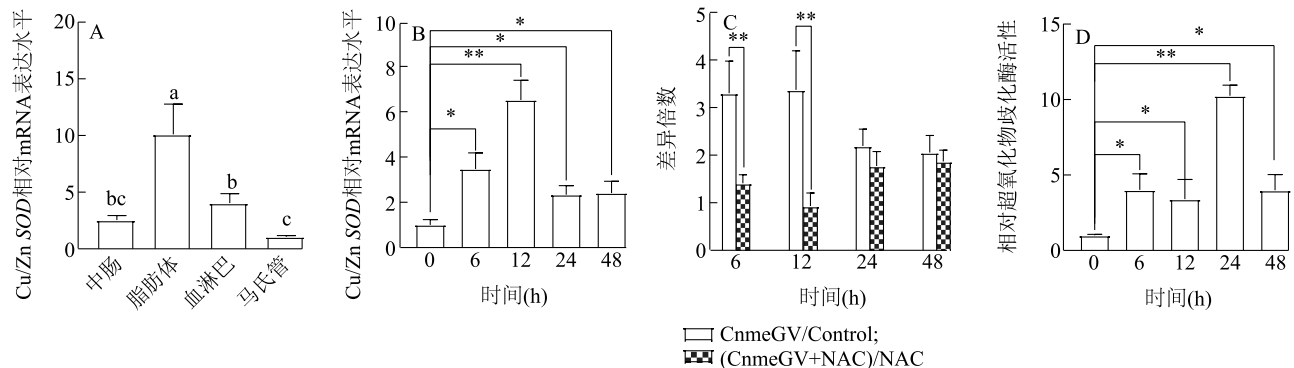
利用 GraphPad Prism 9.0 软件分析数据。根据 *t* 检验分析处理间基因表达水平的差异。

2 结果与分析

2.1 CnmeGV 感染对稻纵卷叶螟幼虫 Cu/Zn SOD mRNA 表达水平和 SOD 活性的影响

稻纵卷叶螟幼虫不同组织中 Cu/Zn SOD 的 mRNA 表达水平如图 1A 所示。从图中可以看出,脂肪体中 Cu/Zn SOD 表达水平最高,血淋巴中表达水平次之,马氏管中表达水平最低,中肠中表达水平最低,与血淋巴和马氏管中的表达水平无显著差异。一般来说,脂肪体是杆状病毒复制的主要器官^[18],血淋巴是杆状病毒传播的主要器官^[19],因

此稻纵卷叶螟幼虫 Cu/Zn SOD 的表达模式有利于杆状病毒的复制和传播。CnmeGV 感染后,稻纵卷叶螟脂肪体内 Cu/Zn SOD 的 mRNA 表达水平变化特征如图 1B 所示。从图中可以看出,CnmeGV 感染后 6 h、12 h、24 h 和 48 h,幼虫脂肪体内的 Cu/Zn SOD 表达水平分别上调至未感染幼虫(0 h)的 3.46 倍、6.50 倍、2.33 倍和 2.40 倍(图 1B)。抗氧化剂 NAC 处理能极显著降低 CnmeGV 感染对 Cu/Zn SOD mRNA 的诱导水平,感染后 6 h 和 12 h, CnmeGV+NAC 处理 Cu/Zn SOD 表达量分别仅为 CnmeGV 处理的 42.72% 和 27.68% (图 1C)。CnmeGV 感染后 6 h、12 h、24 h 和 48 h,稻纵卷叶螟脂肪体中 SOD 活性分别为处理前(0 h)的 4.02 倍、3.40 倍、10.26 倍和 4.00 倍(图 1D)。上述结果表明,CnmeGV 感染能诱导稻纵卷叶螟幼虫的氧化应激,导致幼虫脂肪体中 Cu/Zn SOD 表达水平上调。



A: 稻纵卷叶螟不同组织 Cu/Zn SOD mRNA 表达水平; B: CnmeGV 感染后, 稻纵卷叶螟脂肪体 Cu/Zn SOD mRNA 表达水平变化; C: 抗氧化剂 *N*-乙酰半胱氨酸 (NAC) 处理对病毒诱导的 Cu/Zn SOD mRNA 表达水平的影响; D: CnmeGV 感染对稻纵卷叶螟脂肪体中超氧化物歧化酶 (SOD) 活性的影响。Control、CnmeGV、CnmeGV+NAC 分别为未感染病毒对照、感染 CnmeGV 处理、感染病毒+NAC 处理。柱上不同小写字母表示组织间差异显著 ($P < 0.05$), **、* 分别表示感染后与感染初期差异极显著 ($P < 0.01$) 和差异显著 ($P < 0.05$)。

图 1 CnmeGV 感染对 Cu/Zn 超氧化物歧化酶 (SOD) mRNA 表达和脂肪体中超氧化物歧化酶 (SOD) 活性的影响

Fig.1 Effects of CnmeGV infection on the mRNA expression of Cu/Zn SOD and the activity of superoxide dismutase (SOD) in fat body

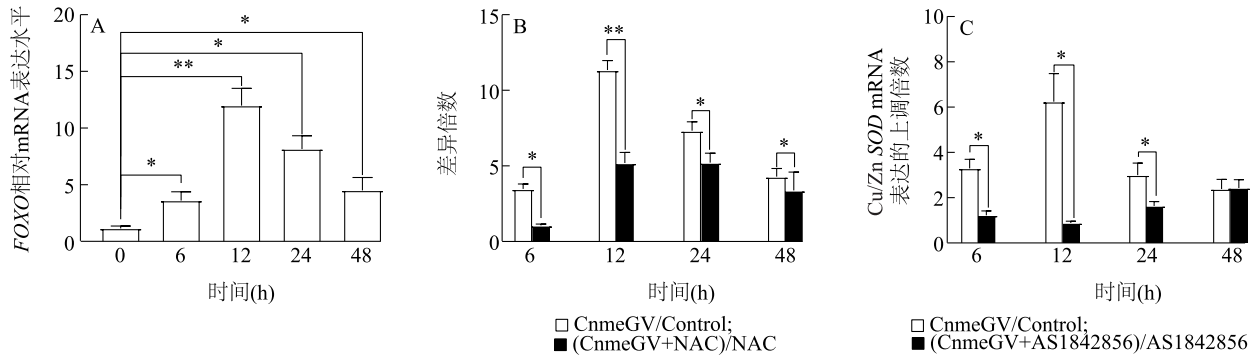
2.2 FOXO 通过调控 Cu/Zn SOD 表达响应 CnmeGV 感染

CnmeGV 感染后,稻纵卷叶螟幼虫 FOXO 表达水平的变化如图 2A 所示。从图中可以看出,CnmeGV 感染后 6 h、12 h、24 h 和 48 h FOXO 表达水平分别为未感染幼虫的 3.59 倍、11.95 倍、8.12 倍和 4.49 倍,显著或极显著上调(图 2A)。抗氧化剂 NAC 处理同样能削弱 CnmeGV 感染对 FOXO mRNA 表达的诱导,感染后 6 h、12 h、24 h 和 48 h, CnmeGV+NAC 处理对 FOXO 表达量的诱导倍数分

别降低至 CnmeGV 感染处理的 30.87%、45.78%、71.23% 和 78.89% (图 2B), 这表明 CnmeGV 感染对 FOXO mRNA 表达的诱导, 同样受感染导致的氧化应激介导, 即 FOXO 可能调控 Cu/Zn SOD 的表达。使用 FOXO 抑制剂 AS1842856 后, CnmeGV 感染稻纵卷叶螟 Cu/Zn SOD 表达水平的变化特征如图 2C 所示。从图中可以看出, 感染后 6 h、12 h 和 24 h, CnmeGV+FOXO 抑制剂处理 Cu/Zn SOD 表达水平的诱导倍数分别为 CnmeGV 处理的 37.00%、14.14% 和 54.51% (图 2C)。利用 JASPAR 和 TF-

BIND 转录因子结合位点预测工具预测发现 *Cu/Zn SOD* 启动子区存在多个 *FOXO* 结合基序(表 2)。上

述结果说明, *FOXO* 转录因子可能通过结合 *Cu/Zn SOD* 基因启动子来调控 *Cu/Zn SOD* 的表达。



A: CnmeGV 感染对 *FOXO* mRNA 表达水平的影响; B: N-乙酰半胱氨酸 (NAC) 处理对 CnmeGV 感染稻纵卷叶螟 *FOXO* mRNA 表达水平的影响; C: 抑制 *FOXO* 后, CnmeGV 感染导致的 *Cu/Zn SOD* mRNA 表达水平的变化。Control、CnmeGV、CnmeGV+NAC、CnmeGV+AS1842856 分别为未感染病毒对照、CnmeGV 感染处理、CnmeGV+NAC 处理、CnmeGV+AS1842856 处理。*、* 分别表示处理间差异极显著 ($P < 0.01$) 和差异显著 ($P < 0.05$)。

图 2 *FOXO* 通过调控 *Cu/Zn* 超氧化物歧化酶 (*SOD*) 表达响应 CnmeGV 感染

Fig.2 *FOXO* responds to CnmeGV infection by regulating *Cu/Zn* superoxide dismutase (*SOD*) expression

表 2 *Cu/Zn* 超氧化物歧化酶 (*SOD*) 启动子区的 *FOXO* 转录因子结合位点

Table 2 *FOXO* binding sites in the *Cu/Zn* superoxide dismutase (*SOD*) promoter region

基因	转录因子	位置		DNA 链序列
		起点	终点	
<i>Cu/Zn SOD</i>	<i>FOXO</i>	-295	-306	CGGTAACATGG
		-19	-30	TCCGTAAACAGG

2.3 *FOXO* 和 *Cu/Zn SOD* 在稻纵卷叶螟抵抗 CnmeGV 感染中的作用

CnmeGV 感染后 6 h、12 h、24 h, *FOXO* 抑制剂 AS1842856+CnmeGV 处理稻纵卷叶螟幼虫 CnmeGV DNA 拷贝数分别为 CnmeGV 感染处理的 1.91 倍、3.42 倍和 2.06 倍, 即 AS1842856 的使用能显著提高感染初期 (6~24 h) 稻纵卷叶螟幼虫体内 CnmeGV 的 DNA 复制水平(图 3A)。单独抑制剂处理不会影响稻纵卷叶螟的存活率(图 3B), 而 CnmeGV 感染情况下, 抑制剂的使用能使死亡率从 CnmeGV 处理的 70.59% 上升到 93.57%(图 3C)。CnmeGV 感染情况下, *SOD* 抑制剂 LCS-1 饲喂处理能显著提高感染后 12 h CnmeGV 的 DNA 复制水平, 而其他时间影响不显著(图 3D)。

同样的, 单独使用 *SOD* 抑制剂对稻纵卷叶螟的存活率无显著影响(图 3E), 而 CnmeGV 感染情况

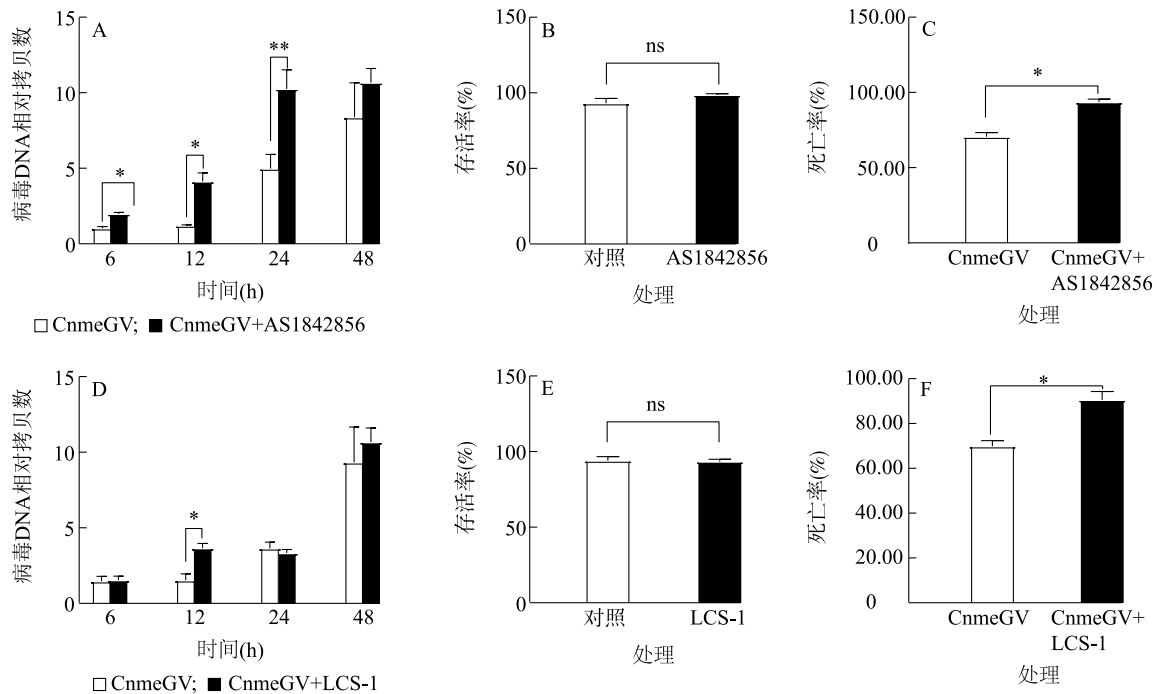
下, 抑制剂 LCS-1 的使用能显著提高 CnmeGV 感染稻纵卷叶螟的死亡率, 增加 29.51%(图 3F)。上述结果说明, *FOXO* 和 *Cu/Zn SOD* 在稻纵卷叶螟抗 CnmeGV 感染过程中具有重要作用。

3 讨论与结论

病毒感染会引起宿主细胞内氧化还原环境失衡, 引发氧化应激, 从而激活宿主的抗氧化防御机制^[8]。杆状病毒等多种昆虫病毒感染宿主后, 会引起宿主生物内活性氧 (ROS) 的过度积累^[20-21]。作为氧化应激的关键响应因子, *FOXO* 和 *SOD* 在调节抗氧化应激中具有重要作用。Sengupta 等^[22] 的研究结果表明, 过表达 *FOXO1* 或 *FOXO3* 能有效减少腺病毒感染导致的心肌细胞活性氧失衡和细胞死亡。Chen 等^[23] 研究发现, 过表达 *SOD3* 可显著降低甲型流感病毒感染引起的人体内活性氧 (ROS) 水平, 并抑制由病毒诱导的细胞凋亡; *FOXO* 基因能通过调控果蝇 (*Drosophila melanogaster*) RNA 干扰途径, 保护果蝇免受 RNA 病毒感染。家蚕 7 种 *SOD* 基因中 *BmSOD3* 基因对藤黄微球菌 (*Micrococcus luteus*) 感染产生响应, 且其在脂肪体中大量表达, 说明不同 *SOD* 基因在维持宿主组织免疫稳态或减轻免疫损伤方面存在功能分化^[24]。本研究发现, *Cu/Zn SOD* 在稻纵卷叶螟脂肪体中表达水平最高。脂肪体是杆状病毒的主要复制器官^[25], 这说明 *Cu/Zn*

SOD 编码基因在 CnmeGV 感染过程中有重要作用。在 CnmeGV 感染早期(6 h 和 12 h),稻纵卷叶螟脂肪体中 Cu/Zn SOD 的表达水平迅速上调,且 SOD 活性增加显著,说明病毒入侵后,宿主迅速开始抗氧化化的防御。此外,本研究还发现,CnmeGV 感染能强

烈诱导宿主 *CmFOXO* 基因的表达,而抗氧化剂 NAC 的使用能显著抑制 Cu/Zn SOD 基因和 *CmFOXO* 基因的表达。上述结果说明,FOXO 和 Cu/Zn SOD 的激活均是由病毒感染所诱导的氧化应激介导的。



A: FOXO 抑制对病毒复制的影响; B: FOXO 抑制对幼虫存活率的影响; C: FOXO 抑制对 CnmeGV 引起的稻纵卷叶螟死亡率的影响; D: Cu/Zn SOD 抑制对病毒基因拷贝数变化的影响; E: Cu/Zn SOD 抑制对幼虫存活率的影响; F: Cu/Zn SOD 抑制对 CnmeGV 引起的稻纵卷叶螟的死亡率的影响。*、** 分别表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)、极显著 ($P < 0.01$)。

图3 FOXO 和 Cu/Zn 超氧化物歧化酶(SOD)抑制对 CnmeGV 感染的影响

Fig.3 Effects of FOXO and Cu/Zn superoxide dismutase (SOD) inhibition on CnmeGV infection

在多种生物中,FOXO 基因可通过调控 SOD 等多种抗氧化基因来发挥保护作用,以抵抗氧化应激^[26]。FOXO 的敲减会显著下调淡色库蚊 SOD-2 的表达水平^[27]。本研究结果表明,FOXO 抑制剂的使用能降低病毒对 Cu/Zn SOD 转录水平的诱导。此外,本研究在 Cu/Zn SOD 的启动子区预测到多个 FOXO 结合位点。上述结果可以说明,FOXO 基因在 CnmeGV 感染过程中可通过直接或间接的方式调控 Cu/Zn SOD 的转录,在下一步的研究中可以通过染色质免疫共沉淀(ChIP-qPCR)等方法进行更充分的验证。

本研究发现,CnmeGV 感染诱导的氧化应激会激活宿主转录因子 FOXO,进而调控 Cu/Zn SOD 的

表达,从而共同抵抗病毒侵染。这一发现不仅为理解昆虫宿主-病毒相互作用机制提供了新的视角,还为新颖的病毒杀虫剂应用策略指明了方向。鉴于 FOXO 介导的抗氧化防御通路能有效抵抗病毒侵染,因此,进行靶向该通路的杀虫剂研发可实现更精准的稻纵卷叶螟防治。

参考文献:

- [1] 王凤英,张孝羲,翟保平. 稻纵卷叶螟的飞行和再迁飞能力[J]. 昆虫学报,2010,53(11):1265-1272.
- [2] ZHANG S K, REN X B, WANG Y C, et al. Resistance in *Cnaphalocrocis medinalis* (Lepidoptera:Pyralidae) to new chemistry insecticides[J]. Journal of Economic Entomology, 2014, 107(2): 815-820.

- [3] DESHAYES C, SIEGWART M, PAURON D, et al. Microbial pest control agents; are they a specific and safe tool for insect pest management? [J]. *Current Medicinal Chemistry*, 2017, 24(27): 2959-2973.
- [4] XU J, LIU Q, LI C M, et al. Field effect of *Cnaphalocrocis medinalis* granulovirus (CnmeGV) on the pest of rice leaffolder [J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2019, 18(9): 2115-2122.
- [5] 徐健, 李传明, 韩光杰, 等. 颗粒体病毒 (CnmeGV) 对稻纵卷叶螟的感染及害虫种群增长的影响 [J]. *江苏农业学报*, 2018, 34(1): 29-33.
- [6] SCHWARZ K B. Oxidative stress during viral infection; a review [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 1996, 21(5): 641-649.
- [7] SANDER W J, FOURIE C, SABIU S, et al. Reactive oxygen species as potential antiviral targets [J]. *Reviews in Medical Virology*, 2022, 32(1): e2240.
- [8] CAMINI F C, DA SILVA CAETANO C C, ALMEIDA L T, et al. Implications of oxidative stress on viral pathogenesis [J]. *Archives of Virology*, 2017, 162(4): 907-917.
- [9] KATSUMA S, KAWAOKA S, MITA K, et al. Genome-wide survey for baculoviral host homologs using the *Bombyx* genome sequence [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2008, 38(12): 1080-1086.
- [10] YANASE T, HASHIMOTO Y, KAWARABATA T. Identification of insertion and deletion genes in *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus variants isolated from *Galleria mellonella*, *Spodoptera exigua*, *Spodoptera litura* and *Xestia c-nigrum* [J]. *Virus Genes*, 2000, 21(3): 167-177.
- [11] HAN G J, LIU Q, LI C M, et al. Transcriptome sequencing reveals *Cnaphalocrocis medinalis* against baculovirus infection by oxidative stress [J]. *Molecular Immunology*, 2021, 129: 63-69.
- [12] KRAFICYK N, KLOTZ L O. FOXO transcription factors in antioxidant defense [J]. *IUBMB Life*, 2022, 74(1): 53-61.
- [13] MARTINS R, LITHGOW G J, LINK W. Long live FOXO; unraveling the role of FOXO proteins in aging and longevity [J]. *Aging Cell*, 2016, 15(2): 196-207.
- [14] KANG X L, WANG Y P, LIANG W J, et al. *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus downregulates transcription factor BmFoxO to elevate virus infection [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2021, 116: 103904.
- [15] TIAN Z Q, ZHA M, CAI L M, et al. FoxO-promoted peroxiredoxin1 expression induced by *Helicoverpa armigera* single nucleopolyhedrovirus infection mediates host development and defensive responses [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022, 234: 113414.
- [16] LO H R, CHAO Y C. Rapid titer determination of baculovirus by quantitative real-time polymerase chain reaction [J]. *Biotechnology Progress*, 2004, 20(1): 354-360.
- [17] 韩光杰, 刘琴, 李传明, 等. 稻纵卷叶螟颗粒体病毒的持续感染及检测 [J]. *中国农业科学*, 2020, 53(19): 3988-3995.
- [18] KATSUMA S, KOBAYASHI J, KOYANO Y, et al. Baculovirus-encoded protein BV/ODV-E26 determines tissue tropism and virulence in lepidopteran insects [J]. *Journal of Virology*, 2012, 86(5): 2545-2555.
- [19] FENG G, YU Q, HU C, et al. Apoptosis is induced in the haemolymph and fat body of *Spodoptera exigua* larvae upon oral inoculation with *Spodoptera litura* nucleopolyhedrovirus [J]. *The Journal of General Virology*, 2007, 88(8): 2185-2193.
- [20] WANG Y, OBERLEY L W, MURHAMMER D W. Evidence of oxidative stress following the viral infection of two lepidopteran insect cell lines [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2001, 31(11): 1448-1455.
- [21] SAH N K, TANEJA T K, PATHAK N, et al. The baculovirus antiapoptotic p35 gene also functions *via* an oxidant-dependent pathway [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1999, 96(9): 4838-4843.
- [22] SENGUPTA A, MOLKENTIN J D, PAIK J H, et al. FoxO transcription factors promote cardiomyocyte survival upon induction of oxidative stress [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2011, 286(9): 7468-7478.
- [23] CHEN F M, CHEN L R, LIANG J L, et al. Potential role of superoxide dismutase 3 (*SOD3*) in resistance to influenza A virus infection [J]. *Antioxidants*, 2023, 12(2): 354.
- [24] KOBAYASHI Y, NOJIMA Y, SAKAMOTO T, et al. Comparative analysis of seven types of superoxide dismutases for their ability to respond to oxidative stress in *Bombyx mori* [J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 2170.
- [25] MATSUDA - IMAI N, KATSUMA S. Characterization of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus infection in fat body-derived *Bombyx mori* cultured cells [J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2020, 177: 107476.
- [26] SPELLBERG M J, MARR M T. FOXO regulates RNA interference in *Drosophila* and protects from RNA virus infection [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(47): 14587-14592.
- [27] SIM C, DENLINGER D L. Catalase and superoxide dismutase-2 enhance survival and protect ovaries during overwintering diapause in the mosquito *Culex pipiens* [J]. *Journal of Insect Physiology*, 2011, 57(5): 628-634.

(责任编辑:石春林)