

引用格式:

史智英, 贺华良, 王建田, 陈杰, 林宇峰, 李有志. 草地贪夜蛾解毒代谢酶对阿魏酸的解毒功能研究[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2024, 50(3): 62–68.

SHI Z Y, HE H L, WANG J T, CHEN J, LIN Y F, LI Y Z. Detoxifying function of detoxification metabolic enzymes in *Spodoptera frugiperda* against ferulic acid[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2024, 50(3): 62–68.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



## 草地贪夜蛾解毒代谢酶对阿魏酸的解毒功能研究

史智英<sup>1</sup>, 贺华良<sup>1</sup>, 王建田<sup>3</sup>, 陈杰<sup>4</sup>, 林宇峰<sup>5</sup>, 李有志<sup>1,2\*</sup>

(1.湖南农业大学植物保护学院, 湖南 长沙 410128; 2.国家植物药用功能成分利用工程技术研究中心, 湖南 长沙 410128; 3.湖南省隆回县农业农村局, 湖南 隆回 422299; 4.常德市鼎城区农业农村局, 湖南 常德 415009; 5.湖南省农业农村厅植保植检站, 湖南 长沙 410005)

**摘要:** 用 1、5、10 mg/g 阿魏酸添饲草地贪夜蛾初孵幼虫, 观察记录幼虫生活历期, 测量幼虫体长、虫体质量, 统计化蛹率和羽化率。采用转录组测序结合 RNA 干扰探究草地贪夜蛾解毒代谢酶对阿魏酸的解毒功能。结果表明: 与添饲丙酮和清水对照相比, 10 mg/g 阿魏酸处理的幼虫发育历期延长了 1.6 倍; 蛹质量仅为对照的 34%; 化蛹率和羽化率分别降低了 80.4% 和 77.7%; 阿魏酸处理激活草地贪夜蛾多个解毒代谢酶基因表达, 沉默解毒酶基因细胞色素氧化还原酶基因 *SfCYP6B6*、甘肽尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶基因(*SfUGT2B15*)可显著增强阿魏酸对草地贪夜蛾的致死效果; 与添饲丙酮对照相比, 阿魏酸对沉默 *SfCYP6B6* 和 *SfUGT2B15* 的草地贪夜蛾幼虫的 72 h 致死率分别提高了 36.7% 和 52.6%。

**关键词:** 阿魏酸; 草地贪夜蛾; 解毒机制; 转录组; 解毒代谢酶

中图分类号: S433.4

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2024)03-0062-07

### Detoxifying function of detoxification metabolic enzymes in *Spodoptera frugiperda* against ferulic acid

SHI Zhiying<sup>1</sup>, HE Hualiang<sup>1</sup>, WANG Jiantian<sup>3</sup>, CHEN Jie<sup>4</sup>, LIN Yufeng<sup>5</sup>, LI Youzhi<sup>1,2\*</sup>

(1.College of Plant Protection, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China; 2.National Research Center of Engineering Technology for Utilization of Botanical Functional Ingredients, Changsha, Hunan 410128, China; 3.Longhui County Agricultural Bureau of Hunan Province, Longhui, Hunan 422299, China; 4.Dingcheng District Agricultural Bureau of Changde City, Changde, Hunan 415009, China; 5.Agriculture and Rural Department of Hunan Province, Plant Protection and Inspection Station, Changsha, Hunan 410005, China)

**Abstract:** In this study, 1, 5, and 10 mg/g ferulic acid were added to the diet of the *Spodoptera frugiperda* (*S. frugiperda*) to observe their effects on the larval duration, larval body length, body mass, pupation rate, and emergence rate. Transcriptome sequencing combined with RNA interference was used to investigate the detoxification function of detoxification metabolic enzymes in the *S. frugiperda* against ferulic acid. The results showed that, compared with the acetone-fed control, the developmental period of larvae treated with 10 mg/g ferulic acid was extended by 1.6 times; the pupal mass was only 34% of the control; and the pupation and eclosion rates were reduced by 80.4% and 77.7%, respectively. Ferulic acid treatment activated the expression of multiple detoxification metabolic enzyme genes in the *S. frugiperda*, and silencing of detoxification enzymes *SfCYP6B6* and *SfUGT2B15* could significantly enhance the lethal effect of ferulic acid on the *S. frugiperda*. Compared with the acetone-fed control, the 72 h lethality rate of ferulic acid on larvae with silenced *SfCYP6B6* and *SfUGT2B15* increased

收稿日期: 2023-12-26

修回日期: 2024-04-02

基金项目: 湖南省重点研发计划项目(2020NK2034); 长沙市自然科学基金项目(kq2202226)

作者简介: 史智英(1998—), 女, 甘肃平凉人, 硕士研究生, 主要从事农业昆虫害虫防治研究, 1214431790@qq.com, \*通信作者, 李有志, 博士, 教授, 主要从事水稻害虫综合防控研究, liyouzhi@hunau.edu.cn

by 36.7% and 52.6%, respectively.

**Keywords:** ferulic acid; *Spodoptera frugiperda*; detoxification mechanism; transcriptome; detoxification metabolic enzyme

草地贪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)是鳞翅目(Lepidoptera)夜蛾科(Noctuidae)夜蛾属(*Spodoptera*)影响全球农业生产的迁移性害虫<sup>[1]</sup>,其生命周期短,迁徙、繁殖能力强<sup>[2]</sup>,为害 300 多种寄主植物<sup>[3]</sup>。自 2019 年 1 月从缅甸传入云南以来,已扩散至长江中下游、西北和华北地区。由于其快速传播和对农作物的破坏作用,草地贪夜蛾已对国家粮食生产安全构成严重威胁。农药防治是目前防治草地贪夜蛾的主要方法,但研究表明该害虫已经对有机磷、氨基甲酸酯和拟除虫菊酯等化学药剂产生中等或高度抗性<sup>[4]</sup>,因此筛选绿色环保、安全有效的药剂至关重要。

植物次生代谢物质可帮助植物抵御昆虫的侵害<sup>[5]</sup>,寄主植物的次生代谢物可参与昆虫的解毒代谢过程,并对昆虫的生长发育产生直接影响<sup>[6-7]</sup>。阿魏酸是一种广泛存在于禾本科、蔷薇科、核桃科植物的酚类化合物<sup>[8-9]</sup>。研究发现,水稻中的阿魏酸与褐飞虱抗性有关,水稻抗褐飞虱品种中的阿魏酸含量显著高于敏感品种的<sup>[10]</sup>。褐飞虱取食含有阿魏酸的人工饲料可降低其幼虫和蛹的平均质量,延长发育时期,降低其繁殖力<sup>[11-12]</sup>。这些结果表明阿魏酸可能成为化学农药的替代物。

为了提高对寄主的适应性,昆虫体内存在一类代谢植物次生代谢物的解毒基因。探明昆虫对次生代谢物的解毒机制,挖掘体内解毒基因可为通过抑制昆虫解毒基因提高杀虫剂的杀虫效果提供分子靶点<sup>[13-15]</sup>,而 RNA 干扰技术(RNAi)是研究基因功能和挖掘害虫防控分子靶点的有效手段。王亚洁等<sup>[16]</sup>使用 RNAi 沉默茄二十八星瓢虫 HvCDA1 基因,发现该基因可影响其蜕皮、化蛹以及羽化,导致死亡。张宏玲等<sup>[17]</sup>利用 RNAi 发现沉默 GdHsp60 和 GdHsp70 基因会显著降低沙葱萤叶甲幼虫的抗寒能力。LUO 等<sup>[18]</sup>干扰 AsFAR 基因,发现其显著影响黑盲蝽雌成虫的生殖。三叶草斑潜蝇 LtCHS2 基因被干扰后,在蛹中表达显著降低,其羽化率显著低于对照<sup>[19]</sup>。通过 RNAi 沉默 ApABCG17 基因导致豌豆蚜对单宁酸敏感性增加<sup>[20]</sup>。

研究表明,细胞色素氧化还原酶基因(CYPs)、谷胱甘肽转移酶基因(GST)和尿苷二磷酸葡萄糖醛

酸转移酶基因(UGTs)是昆虫代谢植物次生代谢物的重要解毒酶基因。例如,饲喂含有阿魏酸的人工饲料后,褐飞虱的 GSTs 相对表达量明显上升<sup>[11]</sup>。敲除 CYP6AE 基因簇导致棉铃虫对植物次生代谢物和杀虫剂的敏感性增加<sup>[21]</sup>。在棉蚜体内,CYP6DA2 的过量表达提高了棉蚜对棉酚和螺虫乙酯的耐受性<sup>[22]</sup>。蚜虫的 MpCYP380C6 和 MpCYP380C9 基因协助其适应吡啶硫苷介导的植物防御<sup>[23]</sup>。

为了明确阿魏酸对草地贪夜蛾的杀虫效果,并探究该虫的解毒代谢酶对阿魏酸的解毒功能,笔者用阿魏酸添饲草地贪夜蛾初孵幼虫,分析阿魏酸对草地贪夜蛾幼虫生活历期、幼虫体长、虫体质量、化蛹率和羽化率的影响。对经阿魏酸处理后的草地贪夜蛾幼虫进行转录组测序,从转录组数据库中筛选响应阿魏酸胁迫的解毒代谢酶基因,使用 RNAi 探究受到阿魏酸显著激活表达的草地贪夜蛾解毒代谢酶基因对阿魏酸的解毒功能,以期开发防治草地贪夜蛾的安全高效绿色杀虫剂提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

草地贪夜蛾种群为用人工饲料长期继代饲养的室内种群,置于温度(26±1)℃、相对湿度(70±10)%、每日 16 h 光照、8 h 黑暗的培养箱中培养。

阿魏酸(纯度 99%)购自上海麦克莱恩生化技术公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 草地贪夜蛾幼虫生长发育指标的观测

采用丙酮溶解阿魏酸,再用超纯水稀释成质量分数分别为 1、5、10 mg/g 的溶液,加入人工饲料中,饲喂草地贪夜蛾初孵幼虫各 30 头,置于培养箱中培养,每天观察记录幼虫的死亡情况<sup>[24]</sup>。挑选存活的 3、4、5、6 龄幼虫各 10 头,测量它们的虫体质量、体长和蛹质量,计算化蛹率及羽化率。重复 4 次,设置添加丙酮和清水的人工饲料添饲的草地贪夜蛾幼虫为对照。

### 1.2.2 草地贪夜蛾转录组测序及解毒酶基因相对表达量的检测

选饲喂添加 5 mg/g 阿魏酸的人工饲料 24 h 后存活的 3 龄幼虫,以饲喂未添加阿魏酸的人工饲料的幼虫为对照,交武汉华大基因公司进行草地贪夜蛾幼虫转录组测序,并构建转录组数据库。

从构建的转录组数据库中筛选与对照相比处理组中上调表达超过 1 倍的解毒酶基因作为候选基因,设计引物(表 1),采用 RT-qPCR 验证基因在转录组中的差异表达情况。

表 1 RT-qPCR 引物序列

引物	引物序列(5'-3')
<i>SfCYP4V2-F</i>	GTCTGTACCCGCCAGTACCC
<i>SfCYP4V2-R</i>	CTCCCCAGTAGCGAGGGTTG
<i>SfCYP6B6-F</i>	CGACTCGCCCGTCCTCTATG
<i>SfCYP6B6-R</i>	CGGGCCGTGTAGGAACAGAA
<i>SfCYP6B5-F</i>	GCGCTATTTCGAGATCCTCGGT
<i>SfCYP6B5-R</i>	CAAACAACGCCGGTGTGGAC
<i>SfCYP4C21-F</i>	CCTGATGATGCCCTGACGGT
<i>SfCYP4C21-R</i>	TGAGCAATCCGTTGCCAAGC
<i>SfCYP6A13-F</i>	GTTTCGACCCGGAGCGATTG
<i>SfCYP6A13-R</i>	CCCTATGCATGCCCTGTTGC
<i>SfCYP4D2-F</i>	CTGACGGAGAAGCTGCGAGA
<i>SfCYP4D2-R</i>	AGACTCGCGTTCGTGTCCTT
<i>SfGST1-F</i>	CCCTCCATCAAATGCGGTGC
<i>SfGST1-R</i>	GCTTCAGATGTTCCGGCGAC
<i>SfGST2-F</i>	CGAACCCATTGCCTCTTGC
<i>SfGST2-R</i>	TCTGAGCGTACGTCTTGCCG
<i>SfUGT2B15-F</i>	AGCTACCGTCGCAACATGGA
<i>SfUGT2B15-R</i>	CGTGTGCGAGCACGTATTCC
<i>SfUGT2B7-F</i>	GTGTGTGAGACCCGCTCTTT
<i>SfUGT2B7-R</i>	TGGCGCACCAACAGCTTCTA
<i>β-actin-F</i>	CGGTATCGTGTGGACTCCGGTG
<i>β-actin-R</i>	GAGTAACCCCTCTCGGTGAGGATC

### 1.2.3 RNAi 验证差异表达基因的功能

设计特异性引物序列 *SfCYP6B6-Not I-F*, ctccccgcccatggcgccgcGACAAAAGTGCTCAAG ACTTTGTGA, *SfCYP6B6-Xba I-R*, ggataacaattcccct ctagaCAAGGCTTGTGCTGACAATAACC; *SfUGT2 B15-Not I-F*, ctccccgcccatggcgccgcAGGCTATCA TATTGAAGAAAAGTGACG, *SfUGT2B15-Xba I-R*, ggataacaattcccctctagaGTGCGTACCTTGGATTAGTA GTA ACTTC, 构建表达载体,诱导表达 *CYP6B6* 和 *UGT2B15* 的双链 RNA(ds*CYP6B6* 和 ds*UGT2 B15*),以表达绿色荧光蛋白基因的双链 RNA(ds*EGFP*)作

为对照。将含有 ds*CYP6B6*、ds*UGT2B15* 和 ds*EGFP* 的菌液分别与人工饲料混合,连续饲喂草地贪夜蛾初孵幼虫。每个处理 6 次重复,每个重复 10 头幼虫,每天更换新鲜的饲料。于 24、48、72 h 后取样,提取总 RNA,RT-qPCR 分析检测基因不同时间的干扰效率。

用含有 dsRNA 的饲料饲喂草地贪夜蛾初孵幼虫 72 h 后,挑出幼虫,置于含有 5 mg/g 的阿魏酸的人工饲料单盒中,于 24、48、72、96 h 统计幼虫死亡数以及龄期。每个处理与对照设置 6 个重复,每个重复 30 头幼虫,每天更换新鲜的饲料,以不添加任何植物次生代谢物质的人工饲料作为对照。

### 1.3 数据分析

运用 SPSS 24.0 软件对试验数据进行差异显著性分析。采用单因素方差分析方法分析对照组和处理组间草地贪夜蛾幼虫发育历期、虫体质量、体长、蛹重、化蛹率、羽化率的差异显著性。采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算基因的相对表达水平<sup>[25]</sup>。采用独立样本 *t* 检验对基因相对表达量数据以及基因沉默后幼虫死亡率数据进行差异显著性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 添饲阿魏酸对草地贪夜蛾幼虫生长发育的影响

添饲阿魏酸的草地贪夜蛾幼虫的生活历期记录列于表 2。结果表明,添饲 1 mg/g 阿魏酸显著延长了 1 龄和 3 龄幼虫的生活历期,但对其他龄期幼虫生活历期无显著影响。添饲 5 mg/g 和 10 mg/g 阿魏酸均显著延长了草地贪夜蛾幼虫的发育进程,10 mg/g 阿魏酸处理的幼虫发育期是丙酮对照组的 1.6 倍。与对照组相比,添饲 1 mg/g 阿魏酸显著缩短了 3 龄和 5 龄幼虫的体长,但对其他龄期幼虫体长无显著影响。添饲 5 mg/g 和 10 mg/g 阿魏酸显著缩短了所有龄期幼虫的体长。除添饲 1 mg/g 阿魏酸仅对 5 龄和 6 龄幼虫的体质量无显著影响外,添饲不同浓度阿魏酸均显著降低草地贪夜蛾幼虫和蛹的体质量。10 mg/g 阿魏酸处理的蛹质量只有空白对照的 34%(表 3)。此外,10 mg/g 阿魏酸处理后的草地贪夜蛾的化蛹率和羽化率分别降低了 80.4% 和 77.7%,这些结果说明阿魏酸对草地贪夜蛾的生长发育具有明显的抑制作用,这种抑制作用随着添饲浓度的增加而增强。

表 2 添饲阿魏酸的草地贪夜蛾幼虫的生活历期

**Table 2 The larval duration of *S. frugiperda* treated with different concentrations of ferulic acid**

阿魏酸质量 分数/(mg g <sup>-1</sup> )	生活历期/d					
	1 龄	2 龄	3 龄	4 龄	5 龄	6 龄
1	(2.91 ± 0.39)b	(2.77 ± 0.66)a	(3.17 ± 0.68)b	(3.25 ± 0.43)a	(2.75 ± 0.82)a	(5.15 ± 0.53)a
5	(3.03 ± 0.49)bc	(3.06 ± 0.54)b	(3.25 ± 0.66)b	(3.71 ± 0.61)b	(3.88 ± 0.76)b	(6.18 ± 0.88)b
10	(3.42 ± 0.65)c	(3.88 ± 0.99)c	(4.32 ± 0.33)c	(4.57 ± 0.88)c	(4.14 ± 0.35)c	(7.14 ± 0.64)c
丙酮对照	(2.74 ± 0.19)a	(2.76 ± 0.63)a	(2.78 ± 0.58)a	(3.21 ± 0.49)a	(2.66 ± 0.56)a	(5.00 ± 0.60)a
空白对照	(2.68 ± 0.48)a	(2.55 ± 0.53)a	(2.51 ± 0.82)a	(2.85 ± 0.66)a	(2.51 ± 0.66)a	(5.01 ± 0.53)a

同列不同字母表示处理间的差异有统计学意义(P<0.05)。

表 3 添饲阿魏酸的草地贪夜蛾幼虫体长、虫体质量、化蛹率和羽化率

**Table 3 The larval length, weight, pupation rate and emergence rate of *S. frugiperda* treated with ferulic acid**

阿魏酸质量 分数/(mg g <sup>-1</sup> )	体长/cm				化蛹率/%	羽化率/%
	3 龄	4 龄	5 龄	6 龄		
1	(0.745 ± 0.055)a	(1.571 ± 0.174)b	(2.240 ± 0.180)a	(2.747 ± 0.179)b	(84.6 ± 0.016)b	(88.2 ± 0.016)b
5	(0.685 ± 0.044)b	(1.454 ± 0.118)c	(2.020 ± 0.113)b	(2.626 ± 0.369)c	(53.3 ± 0.020)c	(44.1 ± 0.019)c
10	(0.586 ± 0.067)c	(1.275 ± 0.286)d	(1.470 ± 0.296)c	(2.496 ± 0.016)d	(18.2 ± 0.018)d	(21.0 ± 0.026)d
丙酮对照	(0.762 ± 0.067)a	(1.664 ± 0.092)a	(2.280 ± 0.139)a	(2.938 ± 0.136)a	(93.3 ± 0.016)a	(94.1 ± 0.021)a
空白对照	(0.775 ± 0.102)a	(1.661 ± 0.088)a	(2.260 ± 0.129)a	(2.882 ± 0.165)a	(95.5 ± 0.004)a	(97.7 ± 0.014)a

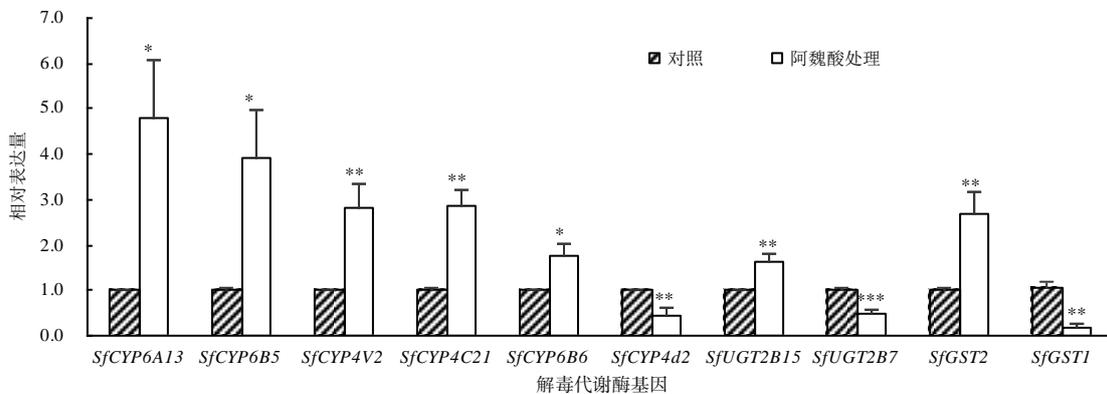
阿魏酸质量 分数/(mg g <sup>-1</sup> )	体质量/g				蛹	化蛹率/%	羽化率/%
	3 龄	4 龄	5 龄	6 龄			
1	(0.010 ± 0.002)b	(0.053 ± 0.016)b	(0.158 ± 0.016)a	(0.344 ± 0.080)a	(0.167 ± 0.017)a	(84.6 ± 0.016)b	(88.2 ± 0.016)b
5	(0.010 ± 0.002)c	(0.046 ± 0.025)c	(0.141 ± 0.019)b	(0.298 ± 0.099)b	(0.106 ± 0.028)b	(53.3 ± 0.020)c	(44.1 ± 0.019)c
10	(0.007 ± 0.007)d	(0.039 ± 0.027)d	(0.053 ± 0.026)c	(0.226 ± 0.065)c	(0.056 ± 0.014)c	(18.2 ± 0.018)d	(21.0 ± 0.026)d
丙酮对照	(0.013 ± 0.049)a	(0.069 ± 0.006)a	(0.159 ± 0.021)a	(0.359 ± 0.041)a	(0.171 ± 0.022)a	(93.3 ± 0.016)a	(94.1 ± 0.021)a
空白对照	(0.011 ± 0.003)a	(0.043 ± 0.006)a	(0.157 ± 0.016)a	(0.369 ± 0.051)a	(0.164 ± 0.051)a	(95.5 ± 0.004)a	(97.7 ± 0.014)a

同列不同字母表示处理间的差异有统计学意义(P<0.05)。

## 2.2 添饲阿魏酸对草地贪夜蛾解毒代谢酶基因表达的影响

对阿魏酸处理后的草地贪夜蛾进行转录组测序,构建转录组数据库。分析丙酮对照组和阿魏酸处理组中基因的差异表达情况,发现丙酮对照组和阿魏酸处理组草地贪夜蛾中差异表达基因共 562 个,其中上调表达基因 277 个,下调表达基因 285 个。

鉴定到转录组数据库中显著上调表达的解毒代谢酶基因共 10 个,分别为 *SfCYP4V2*、*SfCYP6B6*、*SfCYP6B5*、*SfCYP4C21*、*SfCYP6A13*、*SfGST2*、*SfUGT2B15*、*SfUGT2B7*、*SfCYP4D2*、*SfGST1*。采用 TR-qPCR 对显著上调表达基因在转录组中的表达模式进行验证,结果基因的表达与转录组中的表达模式基本一致(图 1)。



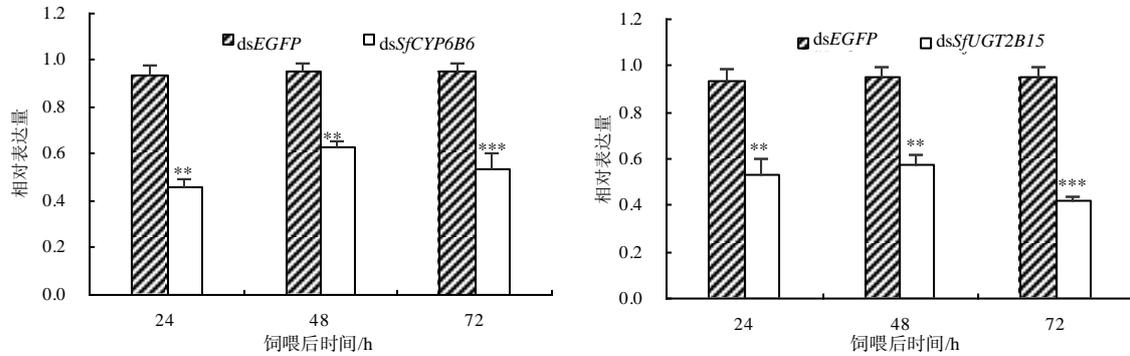
“\*” “\*\*” “\*\*\*”表示处理间的差异有统计学意义(P<0.05, P<0.01, P<0.001)。

图 1 RT-qPCR 验证转录组中差异表达上调的草地贪夜蛾解毒代谢酶基因的相对表达量

Fig.1 RT-qPCR validate the upregulation expression patterns of detoxification metabolic enzyme genes in the transcriptome

### 2.3 沉默解毒酶基因后饲喂阿魏酸对草地贪夜蛾死亡率的影响

选择被阿魏酸显著诱导表达的细胞色素氧化还原酶基因(*SfCYP6B*)和葡萄糖基转移酶基因(*SfUGT2B15*)验证其在草地贪夜蛾代谢阿魏酸的功能。



\*\*\* \*\* 表示处理间差异有统计学意义( $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ )。

图2 沉默 *SfCYP6B6* 或 *SfUGT2B15* 目的基因的相对表达量

Fig.2 Knocking down *SfCYP6B6* or *SfUGT2B15* on the relative expression of target genes

用含有 *dsEGFP*、*dsSfCYP6B6* 和 *dsSfUGT2B15* 的人工饲料饲喂草地贪夜蛾幼虫 72 h, 随后将其转移到添加了 5 mg/g 阿魏酸的人工饲料中继续饲养, 分别在转移后取食 24、48、72 h 统计幼虫死亡率。结果沉默 *dsSfCYP6B6* 或 *dsUGT2B15* 均可显著增强阿魏酸对草地贪夜蛾幼虫的致死效果。与 *dsEGFP* 处理相比, 取食 *dsSfCYP6B6* 和 *dsUGT2B15* 后阿魏酸对幼虫的 72 h 致死率分别提高了 36.7% 和 52.6% (表 4)。

表 4 沉默 *SfCYP6B6* 或 *SfUGT2B15* 的草地贪夜蛾幼虫取食阿魏酸后的死亡率

Table 4 Mortality of *Spodoptera frugiperda* larvae feeding on ferulic acid after knocking down *SfCYP6B6* or *SfUGT2B15*

处理	死亡率/%		
	24 h	48 h	72 h
<i>dsEGFP</i>	4.0±1.2	15.5±1.1	21.7±0.8
<i>dsCYP6B6</i>	(15.6±3.3)**	(21.8±1.4)***	(34.3±2.1)***
<i>dsUGT2B15</i>	(22.0±1.4)**	(33.7±2.0)**	(45.8±2.1)***

同列“\*\*\*”“\*\*”表示处理间的差异有统计学意义( $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ )。

### 3 结论与讨论

植物次生代谢物质能够影响昆虫对寄主植物的食物选择性和寄主适应性。在协同互作过程中, 昆虫为了抵御和适应植物次生代谢物质带来的危害, 进化出了多种解毒策略, 从而使昆虫对不同寄

主植物产生不同的适应能力。本研究结果表明, 阿魏酸对草地贪夜蛾的生长发育具有明显的抑制作用, 草地贪夜蛾的解毒代谢酶细胞色素氧化还原酶基因(*SfCYP6B*)和葡萄糖基转移酶基因(*SfUGT2B15*)在草地贪夜蛾对阿魏酸的解毒代谢过程中发挥重要作用。

细胞色素氧化还原酶和尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶是昆虫重要的解毒酶, 在昆虫代谢外源有害化合物中具有重要的功能。*CYP6B* 家族在植物次生代谢物的解毒代谢中具有重要功能。例如, 东方虎凤蝶(*Papilio glaucus*)的 *CYP6B1* 和 *CYP6B4* 可被其寄主植物中的次生代谢物呋喃香豆素诱导表达, 并参与代谢呋喃香豆素<sup>[26]</sup>; 棉铃虫(*Helicoverpa amigera*)的 *CYP6B6* 可被植物次生代谢物质 2-十三烷酮诱导表达, 其表达量在脂肪体中随取食时间的延长而增加, 推测其可能参与 2-十三烷酮的解毒代谢<sup>[27]</sup>。尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶主要与昆虫对杀虫剂的解毒代谢有关。例如, 用苯甲酸伊玛菌素、硫丹和溴氰菊酯处理后, 斜纹夜蛾(*Spodoptera litura*)幼虫肠中 *UGT* 酶的活性显著增强<sup>[28]</sup>; 同样, 在棉蚜(*A. gossypii*)、烟粉虱(*Bemisia tabaci*)和柑橘木虱(*Diaphorina citri*)等害虫的新烟碱类抗性品系中, 新烟碱类杀虫剂可显著上调 *UGTs* 的表达<sup>[29-31]</sup>; 干扰桔小实蝇(*Bactrocera dorsalis*)的 *UGT301D2*、*UGT35F2*、*UGT36K2* 等基因可以显著提高高效氯

氟氰菊酯、吡虫啉、阿维菌素和毒死蜱对该虫的致死效果<sup>[32]</sup>。本研究中,草地贪夜蛾 *SfCYP6B6* 和 *SfUGT2B15* 可以被阿魏酸显著诱导表达,且沉默这 2 个基因后阿魏酸对草地贪夜蛾的致死效果显著提高,表明 *SfCYP6B6* 和 *SfUGT2B15* 可以响应阿魏酸参与草地贪夜蛾对该物质的解毒代谢,其解毒代谢的机制需进一步研究。

沉默草地贪夜蛾的 2 个解毒代谢酶基因后可显著提高阿魏酸对该虫的致死效果。提示在将阿魏酸开发为新型绿色杀虫剂时可以考虑将其与体外大量表达的关键解毒代谢酶基因的 dsRNA 混合使用,以提高植物次生代谢物质的杀虫效果。

#### 参考文献:

- [1] SEO B Y, LEE G S, PARK J, et al. The complete mitochondrial genome of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* Smith, 1797 (Lepidoptera; Noctuidae), firstly collected in Korea[J]. Mitochondrial DNA, Part B, Resources, 2019, 4(2): 3918–3920.
- [2] TODD E L, POOLE R W. Keys and illustrations for the armyworm moths of the noctuid genus *Spodoptera* Guenee from the western hemisphere[J]. Annals of the Entomological Society of America, 1980, 73(6): 722–738.
- [3] 梁沛, 谷少华, 张雷, 等. 我国草地贪夜蛾的生物学、生态学和防治研究概况与展望[J]. 昆虫学报, 2020, 63(5): 624–638.
- [4] MOTA S D, WISE J C. Arthropod pesticide resistance database[D]. Michigan: Michigan State University, 2019.
- [5] DOGIMONT C, BENDAHMANE A, CHOVELON V, et al. Host plant resistance to aphids in cultivated crops: genetic and molecular bases, and interactions with aphid populations[J]. Comptes Rendus Biologies, 2010, 333(6/7): 566–573.
- [6] DERMAUW W, WYBOUW N, ROMBAUTS S, et al. A link between host plant adaptation and pesticide resistance in the polyphagous spider mite *Tetranychus urticae*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2013, 110(2): E113–E122.
- [7] 范能能, 王金彦, 万年峰, 等. 植物次生代谢物对甜菜夜蛾生长发育及解毒酶的影响[J]. 应用昆虫学报, 2022, 59(1): 165–171.
- [8] CZERNIEWICZ P, LESZCZYNSKI B, CHRZANOWSKI G, et al. Effects of host plant phenolics on spring migration of birdcherry-oat aphid (*Rhopalosiphum padi* L.)[J]. Allelopathy Journal, 2011, 27(8): 309–316.
- [9] CHRZANOWSKI G, LESZCZYNSKI B, CZERNIEWICZ P, et al. Effect of phenolic acids from black currant, sour cherry and walnut on grain aphid (*Sitobion avenae* F.) development[J]. Crop Protection, 2012, 35: 71–77.
- [10] 徐高峰, 张付斗, 李天林, 等. 外源酚酸类物质对一个长雄蕊野生稻材料 S37 化感效应的调控作用[J]. 中国水稻科学, 2010, 24(1): 62–66.
- [11] 杨军. 稻褐飞虱解毒酶基因与水稻芦竹碱和阿魏酸互作及其潜在应用[D]. 北京: 中国农业大学, 2017.
- [12] 杨金睿, 肖美丽. 植物抗虫生理研究进展[J]. 中国农学通报, 2021, 37(6): 130–136.
- [13] 魏向敏, 崔勇, 叶国浚, 等. 草地贪夜蛾寄主适应性、种群动态特征及防控新思路展望[J]. 环境昆虫学报, 2020, 42(1): 42–51.
- [14] 龚流娥, 应淑敏, 张雅芬, 等. 病虫害 RNAi 技术中的外源 RNA 递送策略[J]. 生物工程学报, 2023, 39(2): 459–471.
- [15] 冯家阳, 李常凯, 丁胜利, 等. RNAi 在农业病虫害防控中的应用研究进展[J]. 农药学报, 2022, 24(6): 1302–1313.
- [16] 王亚洁, 刘卓琦, 潘广, 等. RNAi 介导的 HvCDA1 基因沉默影响茄二十八星瓢虫存活和发育[J]. 昆虫学报, 2023, 66(1): 27–36.
- [17] 张宏玲, 任浩, 李凯旋, 等. RNAi 介导的 *GdHsp60* 和 *GdHsp70* 基因沉默对沙葱萤叶甲幼虫抗寒性的影响[J]. 昆虫学报, 2022, 65(7): 807–817.
- [18] LUO J, LIANG S J, LI J Y, et al. A transgenic strategy for controlling plant bugs (*Adelphocoris suturalis*) through expression of double-stranded RNA homologous to fatty acyl-coenzyme A reductase in cotton[J]. The New Phytologist, 2017, 215(3): 1173–1185.
- [19] CHANG Y W, WANG Y C, YAN Y Q, et al. RNA interference of chitin synthase 2 gene in *Liriomyza trifolii* through immersion in double-stranded RNA[J]. Insects, 2022, 13(9): 832.
- [20] LIU L, HONG B, WEI J W, et al. Transcriptional response and functional analysis of ATP-binding cassette transporters to tannic acid in pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* (Harris)[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 220: 250–257.
- [21] WANG H D, SHI Y, WANG L, et al. *CYP6AE* gene cluster knockout in *Helicoverpa armigera* reveals role in detoxification of phytochemicals and insecticides[J]. Nature Communications, 2018, 9(1): 4820.
- [22] PENG T, CHEN X, PAN Y, et al. Transcription factor aryl hydrocarbon receptor/aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator is involved in regulation of the xenobiotic tolerance-related cytochrome P450 *CYP6DA2*

- in *Aphis gossypii* Glover[J]. *Insect Molecular Biology*, 2017, 26(5): 485–495.
- [23] JI R, LEI J X, CHEN I W, et al. Cytochrome P450s *CYP380C6* and *CYP380C9* in green peach aphid facilitate its adaptation to indole glucosinolate-mediated plant defense[J]. *Pest Management Science*, 2021, 77(1): 148–158.
- [24] NY/T 1154.10—2008 农药室内生物测定试验准则 人工饲料混药法[S].
- [25] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  method[J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402–408.
- [26] WEN Z M, PAN L P, BERENBAUM, M R, et al. Metabolism of linear and angular furanocoumarins by *Papilio polyxenes* CYP6B1 co-expressed with NADPH cytochrome P450 reductase[J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2003, 33(9): 937–947.
- [27] LIU X N, LIANG P, GAO X W, et al. Induction of the cytochrome P450 activity by plant allelochemicals in the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner)[J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2006, 84(2): 127–134.
- [28] PAN Y O, TIAN F Y, WEI X, et al. Thiamethoxam resistance in *Aphis gossypii* glover relies on multiple UDP-glucuronosyltransferases[J]. *Frontiers in Physiology*, 2018, 9: 322.
- [29] WANG L, ZHU J S, CUI L, et al. Overexpression of multiple UDP-Glycosyltransferase genes involved in sulfoxaflor resistance in *Aphis gossypii* glover[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(17): 5198–5205.
- [30] DU T H, FU B L, WEI X G, et al. Knockdown of UGT352A5 decreases the thiamethoxam resistance in *Bemisia tabaci* (Hemiptera:Gennadius)[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 186:100–108.
- [31] TIAN F J, WANG Z B, LI C F, et al. UDP-Glycosyltransferases are involved in imidacloprid resistance in the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae)[J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2019, 154: 23–31.
- [32] CHEN M L, ZHANG S X, GUO P Y, et al. Identification and characterization of UDP-glycosyltransferase genes and the potential role in response to insecticides exposure in *Bactrocera dorsalis*[J]. *Pest Management Science*, 2023, 79(2): 666–677.

责任编辑: 罗慧敏  
英文编辑: 罗维

(上接第 61 页)

- [18] 郑晓东, 袭祥利, 李玉琪, 等. 油菜素内酯对盐碱胁迫下平邑甜茶幼苗生长的影响及调控机理研究[J]. *园艺学报*, 2022, 49(7): 1401–1414.
- [19] YUSUF M, FARIDUDDIN Q, KHAN T A, et al. Epibrassinolide reverses the stress generated by combination of excess aluminum and salt in two wheat cultivars through altered proline metabolism and antioxidants[J]. *South African Journal of Botany*, 2017, 112: 391–398.
- [20] 尚庆茂, 宋士清, 张志刚, 等. 外源 BR 诱导黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) 幼苗的抗盐性[J]. *中国农业科学*, 2006, 39(9): 1872–1877.
- [21] SUN S S, AN M Y, HAN L B, et al. Foliar application of 24-epibrassinolide improved salt stress tolerance of perennial ryegrass[J]. *HortScience*, 2015, 50(10): 1518–1523.
- [22] 孙玉珺, 吴玥, 马德志, 等. 外源油菜素内酯对低温胁迫下玉米发芽及幼苗生理特性的影响[J]. *华北农学报*, 2019, 34(3): 119–128.

责任编辑: 毛友纯  
英文编辑: 柳正