



单宁酸对豌豆蚜谷胱甘肽-S-转移酶活性与基因表达的影响

王继祖 刘磊 王森山 宋丽雯

Effect of tannic acid on glutathione-S-transferase activity and gene expression in *Acyrtosiphon pisum*

WANG Jizu, LIU Lei, WANG Senshan, SONG Liwen

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11829/j.issn.1001-0629.2023-0099>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

芥子油苷对豌豆蚜3种解毒酶活性的影响

Effect of glucosinolates on three detoxifying enzyme activity of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*

草业科学. 2023, 40(3): 798 <https://doi.org/10.11829/j.issn.1001-0629.2021-0733>

基于实时荧光定量PCR筛选巨菌草内参基因

Screening of reference genes of *Pennisetum giganteum* based on real-time fluorescence quantitative PCR

草业科学. 2022, 39(5): 907 <https://doi.org/10.11829/j.issn.1001-0629.2021-0680>

玉米B3基因家族全基因组鉴定及表达模式

Genome wide identification and expression pattern analysis of *B3* gene family in maize

草业科学. 2023, 40(10): 2556 <https://doi.org/10.11829/j.issn.1001-0629.2022-0814>

白三叶类黄酮合成基因 *TrCHI* 的克隆及转录分析

Cloning and transcription analysis of flavonoid synthesis gene *TrCHI* from white clover

草业科学. 2023, 40(10): 2547 <https://doi.org/10.11829/j.issn.1001-0629.2023-0102>

燕麦根浸提液对5种植物的潜在化感作用

Potential allelopathic effects of oat root extract on five plants

草业科学. 2023, 40(8): 2048 <https://doi.org/10.11829/j.issn.1001-0629.2022-0750>

共存物种差异对豆科-非豆科微斑块上植物碳氮含量的影响

Effects of coexisting species differences on plant carbon and nitrogen contents in micropatches of legumes and nonlegumes

草业科学. 2023, 40(9): 2238 <https://doi.org/10.11829/j.issn.1001-0629.2022-0644>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

DOI: 10.11829/j.issn.1001-0629.2023-0099

王继祖, 刘磊, 王森山, 宋丽雯. 单宁酸对豌豆蚜谷胱甘肽-S-转移酶活性与基因表达的影响. 草业科学, 2024, 41(2): 459-467.
WANG J Z, LIU L, WANG S S, SONG L W. Effect of tannic acid on glutathione-S-transferase activity and gene expression in *Acyrtosiphon pisum*. Pratacultural Science, 2024, 41(2): 459-467.



单宁酸对豌豆蚜谷胱甘肽-S-转移酶活性与基因表达的影响

王继祖, 刘磊, 王森山, 宋丽雯

(甘肃农业大学植物保护学院, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 本研究通过测定单宁酸 ($2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) 处理豌豆蚜 (*Acyrtosiphon pisum*) 48 h 后体内谷胱甘肽-S-转移酶 (GST) 活性以及不同组织 GST 基因转录水平的变化, 以明确单宁酸对 GST 活性以及基因表达的影响。结果表明: 豌豆蚜取食单宁酸 ($2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) 48 h 后, GST 活性下降。相比不处理对照, 经单宁酸处理后, 豌豆蚜头部有 7 个 GST 基因上调表达, 其中 *ApGST104*、*ApGSTX1* 上调表达 3 倍左右; 胸部有 10 个 GST 基因上调表达, 其中 *ApGSTD6* 上调表达 6.4 倍; 腹部有 10 个 GST 基因上调表达, 其中 *ApGST101*、*ApGST105* 上调 5 倍左右; 中肠有 9 个 GST 基因上调表达, 其中 *ApPGST105* 上调表达 3.2 倍。从结果可以看出, 单宁酸对豌豆蚜 GST 基因的表达产生了影响, 部分 GST 基因显著上调表达 ($P < 0.05$), 表明 GST 基因可能在豌豆蚜对单宁酸的代谢中发挥重要的作用。

关键词: 豌豆蚜; 解毒酶; 植物次生物质; 中肠; GST 基因; 组织解剖; 实时荧光定量 PCR

文献标识码: A 文章编号: 1001-0629(2024)02-0459-09

Effect of tannic acid on glutathione-S-transferase activity and gene expression in *Acyrtosiphon pisum*

WANG Jizu, LIU Lei, WANG Senshan, SONG Liwen

(College of plant propection, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, Gansu, China)

Abstract: In this study, we aimed to determine the effects of tannic acid ($2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) on glutathione-S-transferase (GST) activity and gene expression in pea aphids (*Acyrtosiphon pisum*). Specifically, we measured the changes in GST activity and GST gene expression in different tissues of pea aphids after 48 hours of tannic acid treatment. The results show that GST activity decreased following tannic acid ($2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) treatment. Conversely, GST gene expression was affected; compared to the control, seven GST genes were up-regulated in the head of pea aphids, of which *ApGST104* and *ApGSTX1* were upregulated approximately threefold. Moreover, ten GST genes were upregulated in the chest, of which *ApGSTD6* was upregulated 6.4 times higher than the control. Ten GST genes were upregulated in the abdomen, of which *ApGST101* and *ApGST105* were upregulated approximately fivefold. Nine GST genes were upregulated in the midgut, of which *ApGST105* was upregulated by 3.2 times. These results show that tannic acid affected GST gene expression in pea aphids, with some GST genes being significantly upregulated ($P < 0.05$). This result indicates that GST genes may play an important role in the metabolism of tannic acid in pea aphids.

Keywords: *Acyrtosiphon pisum*; detoxifying enzyme; plant allelochemicals; midgut; GST gene; tissue anatomy; real-time

收稿日期: 2023-02-28 接受日期: 2023-04-11

基金项目: 甘肃省高等学校创新基金项目 (2022A-060); 甘肃农业大学公招博士科研启动项目 (GAN-KYQD-2019-28)

第一作者: 王继祖 (1996-), 男, 甘肃武都人, 硕士, 研究方向为有害生物综合治理。E-mail: 2501469449@qq.com

通信作者: 宋丽雯 (1981-), 女, 甘肃两当人, 副教授, 博士, 研究方向为有害生物综合治理。E-mail: songlw@gsau.edu.cn

fluorescent quantitative PCR

Corresponding author: SONG Liwen E-mail: songlw@gsau.edu.cn

豌豆蚜 (*Acyrtosiphon pisum*) 是豆科作物上的一种害虫, 具有繁殖速度快、环境适应性强等特点, 近年来对苜蓿 (*Medicago sativa*) 等豆科植物的产量和质量造成了严重的威胁。在我国西北苜蓿种植区, 豌豆蚜每年给苜蓿生产造成 10%~30% 的经济损失^[1]。

单宁酸是植物的次生代谢产物, 通过影响昆虫的取食, 从而对昆虫的生长发育产生不利影响^[2]。邵娅等^[3]研究发现, 单宁酸对豌豆蚜的生长发育及繁殖具有明显抑制作用。陆宴辉等^[4]用单宁酸饲喂蚜虫发现, 当浓度在 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 以内时, 单宁酸对棉蚜 (*Aphis gossypii*) 的生长发育具有抑制作用; 当单宁酸浓度大于 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 棉蚜死亡率高达 100%。单宁酸、没食子酸还明显抑制麦长管蚜 (*Sitobion avenae*) 羧酸酯酶 (carboxylesterase, CarE) 和谷胱甘肽-S-转移酶 (glutathione-S-transferases, GST) 的活力, 降低蚜虫解毒能力^[5]。有研究表明, 虽然苜蓿中含有单宁酸, 但是豌豆蚜可以在苜蓿上正常生长发育^[6], 表明其具有代谢单宁酸的能力。

谷胱甘肽-S-转移酶是具有多种功能的超基因家族酶系, 普遍存在动植物、微生物中。目前研究表明, 昆虫谷胱甘肽-S-转移酶基因分为 *Delta*、*Epsilon*、*Omega*、*Sigma*、*Theta* 和 *Zeta* 6 个家族, 其中 *Delta* 和 *Epsilon* 家族是昆虫特有的 GSTs 家族^[7]。现已报道的豌豆蚜 20 个 GST 基因主要以 *Delta* 和 *Sigma* 亚家族为主^[8]。GST 主要功能是催化有毒物质形成低毒、易溶于水的化合物而排出体外, 减少或避免对机体造成损伤^[9]。GST 作为昆虫代谢外源物质的主要酶之一, 其活性受到植物次生物质的诱导。研究表明, 肉桂酸、水杨酸、花椒毒素、槲皮素、黄酮、香豆素、单宁酸、没食子酸和芦丁等植物次生物质均能诱导斜纹夜蛾 (*Spodoptera litura*) 体内 GST 活性^[10]。Wang 等^[11]的研究结果表明, 取食添加芦丁、槲皮素、尼古丁、苦参碱、印楝素或鱼藤酮的人工饲料后, 短星翅蝗 (*Calliptamus abbreviatus*) 的 GST 活性均显著增加。亚洲小车蝗 (*Oedaleus asiaticus*) 的 GST 活性与食物中植物次生化化合物的含量呈正相关关系^[12], 类似的结果也在麦长管蚜中发现^[13]。表明不

同的植物次生物质均可诱导昆虫体内 GST 活性, 且在一些昆虫中存在剂量效应。

GST 家族基因在昆虫代谢植物次生物质的功能已经被证实。斜纹夜蛾 8 个 GST 基因经番茄碱处理后上调, RNA 干扰降低其中一个 GST 基因 *GSTSI* 的表达后, 番茄碱对幼虫的毒性增加^[14]。花椒毒素、单宁酸、没食子酸或芦丁等植物次生物质均可引起斜纹夜蛾 *SIGSTE1* 转录水平显著上调^[15]。此外, 降低褐飞虱 (*Nilaparvata lugens*) 体内 *NIGSTE1* 的表达量, 导致褐飞虱对阿魏酸的敏感性增加^[16]。干扰 *NIGSTE1-1* 的转录水平, 导致褐飞虱对含有芦竹碱的饲料更加敏感^[17], 此外, 褐飞虱 *NIGSTE1-1* 的转录水平被降低后, 若虫的相对增长率和雌虫繁殖力也显著降低^[18]。这些研究结果表明一种植物次生物质可以诱导多个 GST 基因的上调, 而且一个 GST 基因可以参与昆虫对多种植物次生物质的代谢, 但豌豆蚜中 GST 基因的转录是否受到单宁酸的影响尚不清楚。

为明确单宁酸对豌豆蚜体内 GST 活性的影响, 解析豌豆蚜不同组织 GST 基因在单宁酸处理前后转录水平的差异及变化规律, 本研究以绿色型豌豆蚜为供试材料, 测定豌豆蚜在单宁酸处理 48 h 后 GST 活性变化; 通过分析文献与豌豆蚜基因组数据, 确定豌豆蚜体内存在 22 条 GST 基因; 利用 qPCR 解析豌豆蚜不同组织 GST 基因转录水平对单宁酸的响应, 旨在探究 GST 基因在豌豆蚜代谢单宁酸中的功能奠定一定的基础。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

挑选发育健康的绿色型豌豆蚜成蚜于离体蚕豆 (*Vicia faba*) 叶片上, 在光照培养箱内进行培养 [温度: 25°C , 光周期: 16 h/8 h (光/暗)], 待产蚜后剔除成蚜, 培育至 3 龄若蚜时用于试验。

1.2 主要仪器与试剂

主要仪器: 酶标仪 (BioTek Instruments, Inc)、高速冷冻离心机、HQH-H300 智能人工气候箱 (上海

跃进医疗器械有限公司)、荧光定量 PCR 仪(美国 Applied Biosystems 公司)、Eppendorf 型移液枪和水浴锅等。

主要试剂: 异丙醇(甘肃中瑞化工有限公司)、氯仿(成都市科隆化学品有限公司)、无水乙醇(成都市科隆化学品有限公司)、谷胱甘肽-S-转移酶活性检测试剂盒(上海优选生物科技有限公司)、反转录试剂盒试剂盒(宝生物工程 Takara 有限公司)、qPCR 试剂盒(苏州近岸蛋白质科技股份有限公司)等。

1.3 研究方法

1.3.1 单宁酸对豌豆蚜 GST 活性的影响测定

试验设置对照和处理两组。采用离体叶片植物介导法^[19], 将蚕豆苗插入 1.5 mL 离心管中, 再加入 2 g·L⁻¹ 单宁酸 1 000 μL。然后将离心管转移至一个覆盖着纱布的透明塑料杯中, 之后将 3 龄若蚜挑取至塑料杯中的蚕豆苗上。让其摄入单宁酸 48 h, 对照为清水。每个处理 40 只蚜虫, 48 h 后每个处理收集 0.02 g 蚜虫鲜重, 用于 GST 活性测定, 3 个生物重复。收集的蚜虫经液氮冷冻后保存于-80 ℃ 冰箱备用, 测定时加入缓冲液研磨, 制成酶液。

GST 活性测定方法: 使用 GST 活性检测试剂盒, 参照说明书测定并计算出豌豆蚜的酶比活力。

1.3.2 单宁酸对豌豆蚜 GST 基因表达的测定

1) 样品收集

试验设置同 1.3.1, 每处理设 4 个重复, 每个重复 50 只蚜虫, 48 h 后进行解剖, 分别收集头、胸、腹、中肠。收集的蚜虫组织经液氮冷冻后保存于-80 ℃ 冰箱备用。

2) cDNA 的制备

将样品在低温环境下研磨, 用 Trizol 法提取各组织总 RNA, ScanDrop 微量核酸蛋白测定仪测定总 RNA 浓度, 选择 A₂₆₀/A₂₈₀ > 1.8 且 A₂₆₀/A₂₃₀ > 1.8 的样品, 按照反转录试剂盒使用说明进行反转录。转录后的 cDNA 保存于-20 ℃ 作为 qPCR 模板备用。

3) 引物设计

豌豆蚜 GTS 基因的引物序列如表 1 所列。

1.4 数据分析

采用 Excel 2016 统计试验数据, 整理后的数据根据 2^{-ΔΔCt} 法计算相对表达量^[20]。使用 SPSS 23.0 软件进行统计分析, 用独立样本 t 检验进行基因表达

表 1 豌豆蚜 GST 基因 qRT-PCR 引物序列
Table 1 Primer sequence from qRT-PCR for the GST genes of pea aphids

Contig 名 Contig ID	引物序列(5'-3') Primer sequence (5'-3')
<i>ApGSTomega</i>	F-CCGCATGACACAGTGTTCAT R-GCAAAGGCGGTTCTGGATAT
<i>ApGST101</i>	F-CACTTTGGAAGTCTGCCTT R-TTGTCTGTGCGGCCTTAAAC
<i>ApGSTthet</i>	F-TTCACAGCCGAGTTTGAAGC R-TGTATGCTGCCACTCAAGGT
<i>ApGST102</i>	F-CGACGGTGGAAAAGACGATC R-CATTGAATCACCGGCTGTCC
<i>ApGST2</i>	F-TTACTACACTCCTGGCAGCC R-GGCTCTCCACAAAACCAAG
<i>ApGST103</i>	F-TACTTCGATCCCATGAGCCC R-TCCACCGTATTCTCGAACCA
<i>ApGST104</i>	F-TACTACACTCCTGGCAGTCC R-ATAATTGCACGGCTCTCCCA
<i>ApGSTD701</i>	F-GACAACCACGGTCCCATCAT R-AAACAAGTTCACCGTCCTGC
<i>ApGSTD6</i>	F-CGATCCTTTCAACCCGCAAT R-ATGATCGTCTTGTCACCGT
<i>ApGST3</i>	F-CCTGGGCAGTCGAAAGATA R-GCACTACCGTAATAATCCGCC
<i>ApGST105</i>	F-CGGTACTAGAGGACGGTGAC R-GCCGGATACAAGGTTCTGCT
<i>ApGSTD5</i>	F-CGCCATGCAGATCCGTTATG R-AGGGAACAGCGGACTATTGT
<i>ApGSTCD</i>	F-TTTGTTGTGTGTCCCTGCTG R-TTTATCTACTGCCGCCATGC
<i>ApGST107</i>	F-GCCGTTTTGTTGACTCTCGA R-CTGTGCTTGAAGTTTCGGGT
<i>ApGSTD702</i>	F-TTCAGACCGCGGTGATTTTG R-AAGGGTCGATATGGAAGCGA
<i>ApGST108</i>	F-AATCCAGTGTTCTGAATGTTATGC R-AATTTCTCCGCCTCCTTTGC
<i>ApGST109</i>	F-CTGAAAGTACTCGCAATGGC R-ATTGAGATGAGCCCTTCTGACT
<i>ApGSTX1</i>	F-GACGTACTTCAACCTGACAGC R-GATTTCCAACACCGGCACTT
<i>ApGSTX3</i>	F-TCAACTTCACTGGACTGGGC R-TTCCCAATCATCGCTACCAG
<i>ApGSTX4</i>	F-ATGGCCGTGTACAAACTCAC R-TAACGACTGATGGCTGCTGA
<i>ApGSTX5</i>	F-ACTTCAACTTCACTGCTTTGGG R-ACCGTCGATTTCCAACAACG
<i>ApGSTX6</i>	F-ACTTCAACATCACTGCTCTGG R-GCCGTCAATTTCCAAAACAGG

量显著性分析, 以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义, 使用 Origin 2018 软件进行绘图。

2 结果

2.1 单宁酸对豌豆蚜 GST 活性的影响

豌豆蚜取食 $2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 单宁酸 48 h 后, 其 GSTs 活性为 $7.598\text{ nmol}\cdot(\text{min}\cdot\text{g})^{-1}$, 对照组 GSTs 活性为 $11.036\text{ nmol}\cdot(\text{min}\cdot\text{g})^{-1}$ 。测定结果表明, GST 活性有所下降, 但与对照组相比差异不显著 ($P > 0.05$)。

2.2 单宁酸对豌豆蚜 GST 基因 qRT-PCR 分析

2.2.1 豌豆蚜头部 GST 基因 qRT-PCR 分析

通过对豌豆蚜头部 GST 基因表达量测定分析, 结果显示, 蚜虫取食单宁酸后, 其头部有 11 个基因表达水平变化显著 ($P < 0.05$) (图 1), 其中 *ApGST101*、*ApGST102*、*ApGST104*、*ApGST109*、*ApGST2*、*ApGSTX1*、*ApGSTD6* 显著上调表达 (图 1A), *ApGST101* 表达量上调 2.5 倍; *ApGST104*、*ApGSTX1* 上调表达 3 倍左右;

ApGST103、*ApGST108*、*ApGSCD*、*ApGSTomega* 表达量下调 (图 1B), 其中 *ApGST108*、*ApGSTCD* 下调表达 3 倍左右; *ApGST103*、*ApGSTomega* 下调表达 1.4 倍左右。有 11 个基因表达水平不显著 ($P > 0.05$) (图 1C)。

2.2.2 豌豆蚜胸部 GST 基因 qRT-PCR 分析

蚜虫取食单宁酸后, 其胸部有 15 个基因表达水平变化显著 ($P < 0.05$) (图 2), 其中 *ApGST101*、*ApGST102*、*ApGST103*、*ApGST104*、*ApGST109*、*ApGST2*、*ApGSTX4*、*ApGSTD5*、*ApGSTD6*、*ApGSThet* 均上调表达, *ApGSTD6* 相对表达量为对照组的 6.4 倍; *ApGST107*、*ApGST108*、*ApGST3*、*ApGSTX3*、*ApGSTomega* 被单宁酸抑制, 呈下调表达 (图 2B), 其中 *ApGST107*、*ApGSTomega* 下调表达 5 倍左右; *ApGST108*、*ApGST3* 下调表达 3.5 倍; *ApGSTX3* 下调表达 1.6 倍。有 7 个基因表达差异不显著 ($P > 0.05$) (图 2C)。

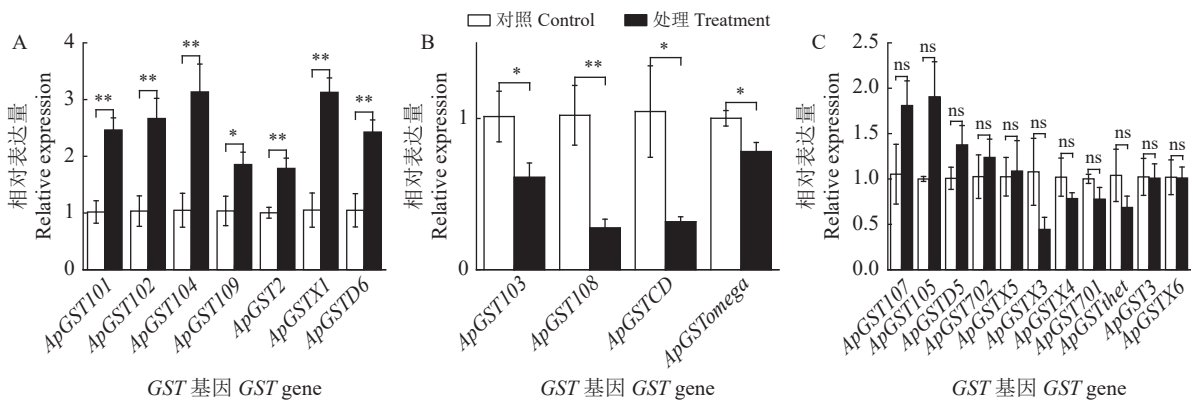


图 1 豌豆蚜取食单宁酸 48 h 头部 GST 基因表达量的变化

Figure 1 Changes in GST genes expression in the head of pea aphids treated with tannic acid for 48 hours

A: 上调基因; B: 下调基因; C: 无显著差异基因。下同。

A: upregulated genes; B: downregulated genes; C: genes which were not significantly upregulated or downregulated. **, $P < 0.01$; *, $P < 0.05$; ns, $P > 0.05$. This is applicable for the following figures as well.

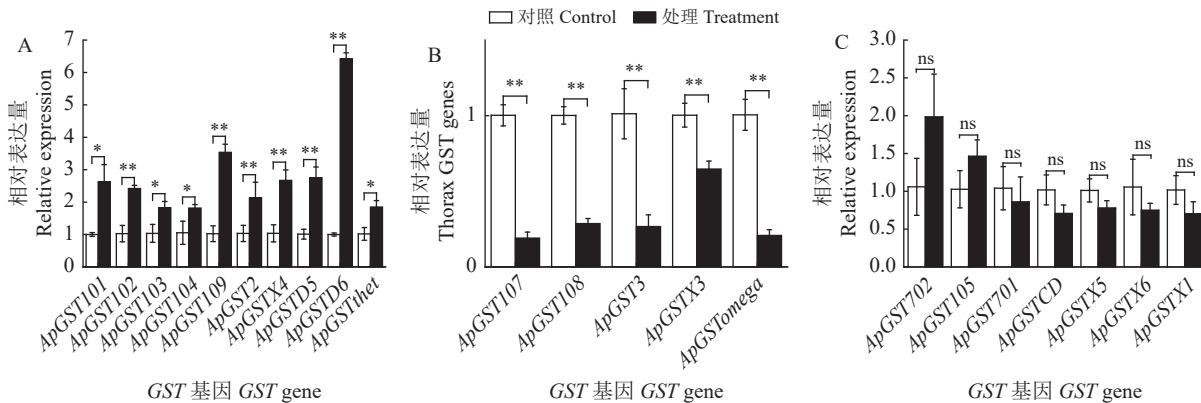


图 2 豌豆蚜取食单宁酸 48 h 胸部 GST 基因表达量的变化

Figure 2 Changes in GST genes expression in the thorax of pea aphids treated with tannic acid for 48 hours

2.2.3 豌豆蚜腹部 GST 基因 qRT-PCR 分析

蚜虫取食单宁酸后,其腹部有 16 个基因表达水平变化显著 ($P < 0.05$) (图 3), *ApGSTI01*、*ApGSTI03*、*ApGSTI04*、*ApGSTI05*、*ApGSTI07*、*ApGST702*、*ApGSTX1*、*ApGSTX5*、*ApGSTD6*、*ApGSThet* 显著上调表达,其中 *ApGSTI01*、*ApGSTI05* 表达量达到对照的 5 倍;在单宁酸诱导下, *ApGSTI08*、*ApGSTI09*、*ApGSTD5* 和 *ApGSTomega* 下调表达 2 倍左右 (图 3B); *ApGST3*、*ApGSTX3* 分别下调表达 3.9 倍和 6.2 倍。有 6 个基因表达量差异不显著 ($P > 0.05$) (图 3C)。

2.2.4 豌豆蚜中肠 GST 基因 qRT-PCR 分析

蚜虫取食单宁酸后,其中肠有 13 个基因表达水平具显著性差异 ($P < 0.05$) (图 4), 其中 *ApGSTI04*、*ApGSTI05*、*ApGSTI07*、*ApGST2*、*ApGST3*、*ApGSTD6*、*ApGSTX4*、*ApGSTX6*、*ApGSTCD* 显著上调表达 (图 4A), *APGSTI05* 表达量上调最高,为对照的 3.2 倍;有 4 个基因下调表达 (图 4B), *ApGSTomega* 下调表达最高,为 7 倍左右; *ApGSTI02* 和 *ApGST701* 下调表

达 2 倍左右; *ApGSThet* 下调表达 3.3 倍。有 9 个基因表达量差异不显著 ($P > 0.05$) (图 4C)。

3 讨论

单宁酸是植物次级代谢产物,广泛存在于植物中,对许多害虫物种的生长具有内源性抑制作用^[21]。研究表明,单宁酸在昆虫肠道中会与叶蛋白或消化酶形成复合物,降低昆虫对食物的利用率并延缓昆虫生长发育^[22-23]。解毒酶在昆虫代谢外源物质中发挥重要的作用,是维持昆虫正常生理功能的重要物质^[24]。昆虫的主要解毒酶包括细胞色素 P450 酶 (Cytochrome P450, CYP450)、GST、羧酸酯酶 (CarE) 等。昆虫在代谢外源物质的过程中, GST 将其底物与谷胱甘肽分子结合,使底物更易溶于水; CYP450 氧化其底物使其对偶联酶具有反应性; CarE 可水解许多含有内源性和外源性酯的化合物^[25]。解毒酶在昆虫与寄主植物之间的相互作用中具有重要作用^[26]。本研究发现单宁酸可影响 GST 的活性并且在不同

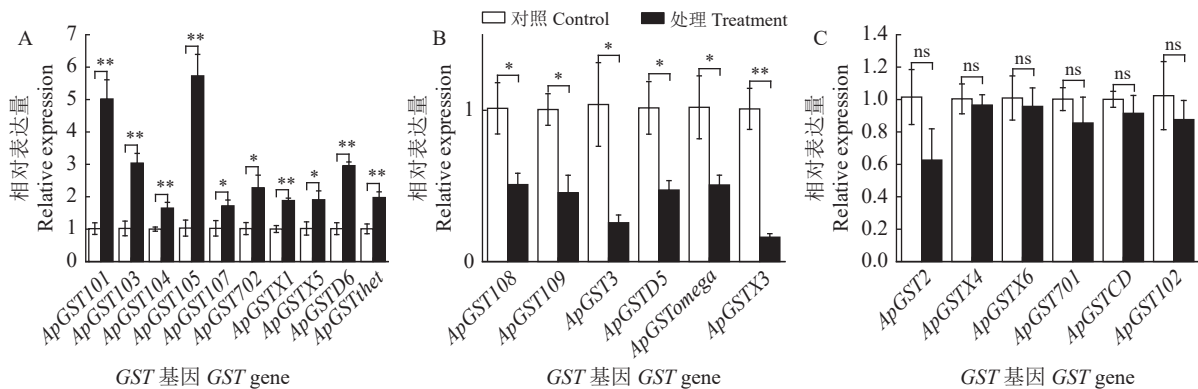


图 3 豌豆蚜取食单宁酸 48 h 腹部 GSTs 基因表达量的变化

Figure 3 Changes in GST gene expression in the abdomen of pea aphids treated with tannic acid for 48 hours

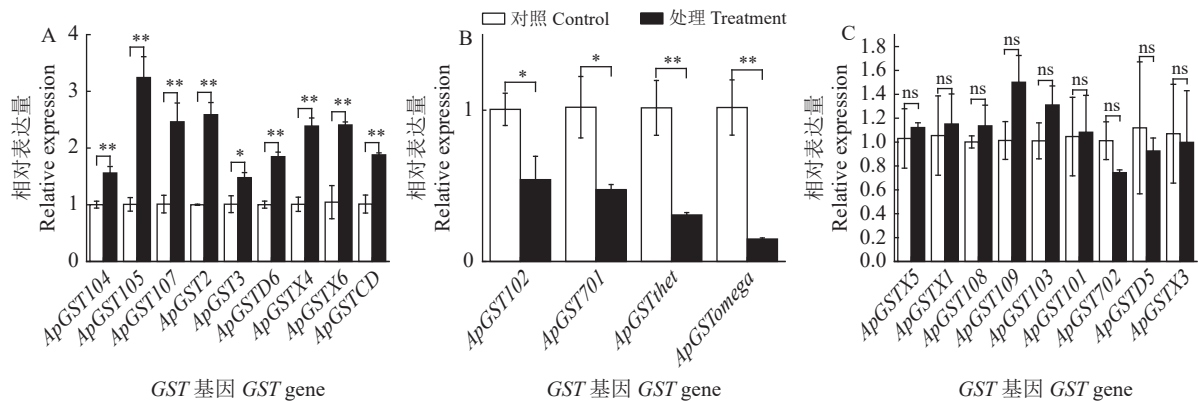


图 4 豌豆蚜取食单宁酸 48 h 中肠 GST 基因表达量的变化

Figure 4 Changes in GST gene expression in the midgut of pea aphids treated with tannic acid for 48 hours

组织中对 *GST* 基因表达有一定的影响。

植物次生物质对不同昆虫的作用效果也不同。辣椒素对烟青虫 (*Helicoverpa assulta*) *GST* 有显著的诱导作用,番茄苷则抑制其活性。而番茄苷、辣椒素对棉铃虫 (*Helicoverpa armigera*) *GST* 并无显著影响^[27]。本研究发现,豌豆蚜取食 $2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 单宁酸 48 h 后, *GST* 活性下降,可能是由于豌豆蚜吸收单宁酸含量超过了自身解毒代谢的极限,导致解毒代谢功能下降, *GST* 活性降低。单宁酸对 *GST* 活性的影响取决于剂量和时间,低剂量或短时间用单宁酸处理, *GST* 活性升高,反之, *GST* 活性降低或没有影响^[28]。如单宁酸对杨小舟蛾 (*Micromelalopha troglodyta*) *GST* 诱导具有明显的剂量效应和时间效应关系^[29]。通过对马铃薯块茎蛾 (*Phthorimaea operculella*) 进行含烟碱饲料饲喂,发现烟碱处理后其体内解毒酶 CarE 和 *GST* 的含量呈逐渐降低的趋势,可能是马铃薯块茎蛾为了适应烟碱而作出的响应^[30]。

研究发现,槲皮素等可以诱导棉铃虫 *GST* 基因的上调表达,表明 *GST* 基因可能参与了棉铃虫对槲皮素的代谢过程^[31]。此外,番茄碱可以诱导斜纹夜蛾 *GST* 基因的上调表达,利用 RNA 干扰降低其中一个 *GST* 基因的表达后,番茄碱对幼虫的毒性增加^[32]。本研究通过实时荧光定量 RT-qPCR 分析了蚜虫中肠、头部、胸部和腹部中 22 个条 *GST* 基因的 mRNA 相对表达水平。结果显示, *GST* 基因在蚜虫不同组织中具有多样化的表达模式。其中 *ApGST101* 在头部的表达量上调了 2.5 倍, *ApGSTD6* 在胸部中的相对表达水平上调 6.4 倍。这可能是由于唾液腺在解剖过程中并未分离的原因。昆虫唾液腺具有排毒、抵抗植物次生物质和外源有毒物质的作用^[33]。不同组织中,桃蛀螟 (*Dichocrocis punctiferalis*) *CYP4G113* 基因在唾液腺中的表达量最高。*CYP4G113* 基因被干扰后,

幼虫在玉米 (*Zea mays*) 上的存活率、化蛹率等生命参数显著降低。这可能是 *CYP4G113* 基因被干扰后影响了桃蛀螟对寄主次生物质的代谢,有毒物质大量积累,导致死亡^[34]。当桃蚜 (*Myzus persicae*) 取食含有茉莉酸和水杨酸的人工饲料后,唾液腺特异表达基因 *C002* 和 *sigma GST* 基因表达量显著升高,表明桃蚜利用寄主植物次生代谢产物,提高相关解毒酶或唾液蛋白基因表达量,增强对寄主防御的适应性^[35]。

本研究中, *ApGST105* 在中肠组织中表达水平最高。中肠是外源化合物解毒的重要部位,含有高水平表达的 *GST* 基因^[36]。所以推测 *ApGST105* 基因可能参与了豌豆蚜对单宁酸的代谢过程。在对其他昆虫的研究中也有类似结果,如美国白蛾 (*Hyphantria cunea*) 取食添加绿原酸的人工饲料后,中肠中 1 个 *GST* 基因的 mRNA 水平被显著诱导^[37]。此外,昆虫的脂肪体在其对植物次生代谢物和外源毒素解毒代谢的过程中也有重要作用^[38]。如斜纹夜蛾进食 0.01% 单宁酸、0.5% 单宁酸后,脂肪体 *SIGSTe1* 的表达量显著上升,说明在一定浓度范围内,单宁酸可以使脂肪体的 *SIGSTe1* 表达上调^[14]。而本研究中 *ApGST105* 在腹部中表达量上调 5 倍,可能是因为脂肪体参与了豌豆蚜代谢单宁酸的过程。

经单宁酸处理 48 h 后,豌豆蚜体内 *GST* 活性降低,但部分 *GST* 基因显著上调表达。这可能与豌豆蚜部分 *GST* 基因下调倍数较高有关。

4 结论

本研究结果显示,单宁酸对 *GST* 活性以及 *GST* 基因的转录都产生了影响。后期将根据定量分析 *GST* 基因表达量的结果,筛选出关键基因,用 RNAi 技术验证关键基因的基因功能,进一步阐释豌豆蚜对单宁酸代谢机制。

参考文献 References:

- [1] 赵怀志, 杨杨, 张嘉乐, 李江杰, 赵川德, 石岩, 刘同先. 豌豆蚜虫龄期特征及鉴别. 应用昆虫学报, 2021, 58(3): 747-754.
ZHAO H Z, YANG Y, ZHANG J L, LI J J, ZHAO C D, SHI Y, LIU T X. Morphological characteristics for distinguishing the instars of *Acyrtosiphon pisum*. Chinese Journal of Applied Entomology, 2021, 58(3): 747-754.
- [2] 薛皎亮, 谢映平, 刘计权, 王金胜, 冀卫荣. 鞘蛾危害后诱导华北落叶松体内化学物质变化的研究. 林业科学, 2000(4): 46-50.
XUE J L, XIE Y P, LIU J Q, WANG J S, JI W R. A study on the variation of some chemical substances in the body of larch induced by the damage from the larch case-bearer. Scientia Silvae Sinicae, 2000(4): 46-50.
- [3] 邵娅, 王森山, 叶超. 单宁酸对红、绿色型豌豆蚜生长发育及繁殖的影响. 草地学报, 2017, 25(4): 866-870.

- SHAO Y, WANG S S, YE C. Effects of tannic acid on growth and reproduction of red and green pea aphid. *Acta Agrestia Sinica*, 2017, 25(4): 866-870.
- [4] 陆宴辉, 李晓慧, 薛文杰, 杨海燕, 刘洋, 王峰, 余月书, 杨益众. 4种生物物质对棉蚜实验种群增长的影响. *扬州大学学报*, 2005(3): 83-87.
- LU Y H, LI X H, XUE W J, YANG H Y, LIU Y, WANG F, YU Y S, YANG Y Z. Impacts of four biochemicals on population development of *Aphis gossypii* glover. *Journal of Yangzhou University*, 2005(3): 83-87.
- [5] 陈巨莲, 倪汉祥, 孙京瑞, 程登发. 小麦几种主要次生物质对麦长管蚜几种酶活力的影响. *昆虫学报*, 2003(2): 144-149.
- CHEN J L, NI H X, SUN J R, CHENG D F. Effects of major secondary chemicals of wheat plants on enzyme activity in *Sitobion avenae*. *Acta Entomologica Sinica*, 2003(2): 144-149.
- [6] 达丽婷. 不同苜蓿品种对豌豆蚜消化吸收的影响. 兰州: 甘肃农业大学硕士学位论文, 2015.
- DA L T. The effect of different alfalfa varieties on the digestion and absorption of pea aphid. Master Thesis. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2015.
- [7] DAVIS G K. Genome sequence of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. *PLoS Biology*, 2010, 8(2): e1000313.
- [8] 刘长莉, 卢利霞, 许艳丽, 杨鹏程, 崔峰. 灰飞虱唾液腺三大解毒酶家族的转录组分析. *昆虫学报*, 2013, 56(12): 1509-1515.
- LIU C L, LU L X, XU Y L, YANG P C, CUI F. Transcriptomic analysis of three detoxification enzyme families in the salivary glands of the small brown planthopper, *Laodelphax striatellus* (Hemiptera: Delphacidae). *Acta Entomologica Sinica*, 2013, 56(12): 1509-1515.
- [9] NENA P, JOHN V, THOMAS V L. The role of glutathione-S-transferases (GSTs) in insecticide resistance in crop pests and disease vectors. *Current Opinion in Insect Science*, 2018, 27(27): 97-102.
- [10] 王瑞龙, 孙玉林, 梁笑婷, 宋圆圆, 苏贻娟, 朱克岩, 曾任森. 6种植物次生物质对斜纹夜蛾解毒酶活性的影响. *生态学报*, 2012, 32(16): 5191-5198.
- WANG R L, SUN Y L, LIANG X T, SONG Y Y, SU Y J, ZHU K Y, ZENG R S. Effects of six plant secondary metabolites on activities of detoxification enzymes in *Spodoptera litura*. *Acta Ecologica Sinica*, 2012, 32(16): 5191-5198.
- [11] WANG Y Y, HUANG X B, CHANG B H, ZHANG Z H. The survival, growth, and detoxifying enzyme activities of grasshoppers *Oedaleus asiaticus* (Orthoptera: Acrididae) exposed to toxic rutin. *Applied Entomology and Zoology*, 2020, 55(4): 385-393.
- [12] HUANG X B, MA J C, QIN X H, TU X B, CAO G C, WANG G J, NONG X Q, ZHANG Z H. Biology, physiology and gene expression of grasshopper *Oedaleus asiaticus* exposed to diet stress from plant secondary compounds. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 1-9.
- [13] CAI Q N, HAN Y, CAO Y Z, HU Y, ZHAO X, BI J L. Detoxification of gramine by the cereal aphid *Sitobion avenae*. *Journal of Chemical Ecology*, 2009, 35(3): 320-325.
- [14] 黄敏燕, 李雪峰. 植物次生物质对斜纹夜蛾解毒酶活性的影响. *基因组学与应用生物学*, 2018, 37(8): 3495-3502.
- HUANG M Y, LI X F. Effects of plant secondary metabolite on detoxification enzyme activity of *Spodoptera litura*. *Genomics and Applied Biology*, 2018, 37(8): 3495-3502.
- [15] XU Z B, ZOU X P, ZHANG N, FENG Q L, ZHANG S C. Detoxification of insecticides, allechemicals and heavy metals by glutathione-S-transferase SIGSTE1 in the gut of *Spodoptera litura*. *Insect Science*, 2015, 22(4): 503-511.
- [16] YANG J, SUN X Q, YAN S Y, PAN W J, ZHANG M X, CAI Q N. Interaction of ferulic acid with glutathione-S-Transferase and carboxylesterase genes in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Journal of Chemical Ecology*, 2017, 43(7): 693-702.
- [17] ALI M S, LWANAGA M, KAWASAKI H. Ecdysone-responsive transcriptional regulation determines the temporal expression of cuticular protein genes in wing discs of *Bombyx mori*. *Gene*, 2013, 512(2): 337-347.
- [18] CHAO Y, YI D J, XIN A, LI Y, FENG S, NIU J Z, WANG J J. Effects of RNAi-based silencing of chitin synthase gene on moulting and fecundity in pea aphids (*Acyrtosiphon pisum*). *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 1-10.
- [19] 张育霞, 张廷伟, 史历, 袁月, 刘长仲. 外源褪黑素对苜蓿蚜生长发育和繁殖的影响. *生态学杂志*, 2023, 42(5): 1150-1154.
- ZHANG Y X, ZHANG T W, SHI L, YUAN Y, LIU C Z. Effects of exogenous melatonin on the growth and reproduction of *Aphis craccivora*. *Chinese Journal of Ecology*, 2023, 42(5): 1150-1154.
- [20] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-ΔΔC_T}

- Delta C (T)) Method. Methods, 2001, 25(4): 8-10.
- [21] 李路莎, 袁郁斐, 武磊, 陈敏. 不同寄主植物对美国白蛾幼虫取食行为及解毒酶活性的影响. *昆虫学报*, 2018, 61(2): 232-239.
LI L S, YUAN Y F, WU L, CHEN M. Effects of host plants on the feeding behavior and detoxification enzyme activities in *Hyphantria cunea* larvae. *Acta Entomologica Sinica*, 2018, 61(2): 232-239.
- [22] FEENY P. Seasonal changes in oak leaf tannins and nutrients as a cause of spring feeding by winter moth caterpillars. *Ecology*, 1970, 51(4): 565-581.
- [23] CHEN H, LIU J, CUI K, LU Q, WANG C, WU H X, YANG Z X, DING W F, SHAO S X, WANG H Y, LING X F, KIRST K J, CHEN X M. Molecular mechanisms of tannin accumulation in rhus galls and genes involved in plant-insect interactions. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 1-12.
- [24] LAURENCE D, DAVID J P, GALLET C. The evolutionary ecology of insect resistance to plant chemicals. *Trends in Ecology & Evolution*, 2007, 22(6): 298-307.
- [25] YUAN Y F, LI L S, ZHAO J F, CHEN M. Effect of tannic acid on nutrition and activities of detoxification enzymes and acetylcholinesterase of the fall webworm (Lepidoptera: Arctiidae). *Journal of Insect Science*, 2020, 20(1): 1-7.
- [26] 董钧锋, 张继红, 王琛柱. 植物次生物质对烟青虫和棉铃虫食物利用及中肠解毒酶活性的影响. *昆虫学报*, 2002(3): 296-300.
DONG J F, ZHANG J H, WANG C Z. Effects of plant allelochemicals on nutritional utilization and detoxication enzyme activities in two *Helicoverpa* species. *Acta Entomologica Sinica*, 2002(3): 296-300.
- [27] 陈澄宇, 康志娇, 史雪岩, 高希武. 昆虫对植物次生物质的代谢适应机制及其对昆虫抗药性的意义. *昆虫学报*, 2015, 58(10): 1126-1139.
CHEN C Y, KANG Z J, SHI X Y, GAO X W. Metabolic adaptation mechanisms of insects to plant secondary metabolites and their implications for insecticide resistance of insects. *Acta Entomologica Sinica*, 2015, 58(10): 1126-1139.
- [28] 张秀波, 汤方, 刘玉升, 高希武. 单宁酸对杨小舟蛾谷胱甘肽-S-转移酶活性的诱导. *应用昆虫学报*, 2009, 46(4): 579-584.
ZHANG X B, TANG F, LIU Y S, GAO X W. Induction of glutathione-S-transferases by tannic acid in *Micromelalopha troglodyte*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2009, 46(4): 579-584.
- [29] TANG F, TU H Z, SHANG Q L, GAO X W, LIANG P. Molecular cloning and characterization of five glutathione-S-transferase genes and promoters from *Micromelalopha troglodyta* (Graeser) (Lepidoptera: Notodontidae) and their response to tannic acid stress. *Insects*, 2020, 11(6): 339-355.
- [30] 刘佳妮, 黄鹤平, 华金珠, 张瑜瑜, 姚丽媛. 烟碱对马铃薯块茎蛾幼虫保护酶和解毒酶的影响. *贵州农业科学*, 2015, 43(3): 78-81.
LIU J N, HUANG H P, HUA J Z, ZHANG Y Y, YAO Y L. Effects of nicotine on protective and detoxifying enzymes of *Phthorimaea operculella* larvae. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2015, 43(3): 78-81.
- [31] CHEN S, MOHAMMED E A E, DING C H, LI Z F, WANG J. Plant allelochemicals affect tolerance of polyphagous lepidopteran pest *Helicoverpa armigera* (Hübner) against insecticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2019, 154 (2): 32-38.
- [32] LI Q L, SUN Z X, SHI Q, WANG R M, XU C C, WANG H H, SONG Y Y, ZENG R S. RNA-Seq analyses of midgut and fat body tissues reveal the molecular mechanism underlying *Spodoptera litura* resistance to tomatine. *Frontiers in Physiology*, 2019, 10: 1-12.
- [33] LOREN J R V, FLOR E A, GARY W F. Genomics of lepidoptera saliva reveals function in herbivory. *Current Opinion in Insect Science*, 2017, 19(19): 61-69.
- [34] 袁星星, 董少奇, 王鑫辉, 郭线茹, 王高平, 李为争, 张利娟, 赵曼. 桃蛀螟细胞色素 P450 基因 *CYP4G113* 时空表达及功能研究. *中国生物防治学报*, 2022, 38(1): 196-204.
YUAN X X, DONG S Q, WANG X H, GUO X R, WANG G P, LI W Z, ZHANG L J, ZHAO M. Spatio-temporal expression and function of cytochrome P450 Gene *CYP4G113* in *Conogethes punctiferalis*. *Chinese Journal of Biological Control*, 2022, 38(1): 196-204.
- [35] 张勇, 范佳, 赵兴延, 刘勇, 孙京瑞, Frederic F, 陈巨莲. 植物防御信号物质 JA/SA 对桃蚜解毒酶谷胱甘肽-S-转移酶及唾液腺基因 *C002* 表达诱导反应. *中国科学: 生命科学*, 2016, 46(5): 665-672.
ZHANG Y, FAN J, ZHAO X Y, LIU Y, SUN J R, FREDERIC F, CHEN J L. Effects of plant defense signal molecules jasmonic

acid and salicylic acid on the expression of detoxification enzyme glutathione-S-transferases and salivary protein C002 in *Myzus persicae*. *Scientia Sinica (Vitae)*, 2016, 46(5): 665-672.

[36] TANG F, ZHANG X B, LIU Y S, GAO X W, LIU N N. In vitro inhibition of glutathione-S-transferases by several insecticides and allelochemicals in two moth species. *International Journal of Pest Management*, 2014, 60(1): 33-38.

[37] 潘忠玉. 3 种次生代谢物对美国白蛾幼虫生长发育及解毒酶活性的影响. 北京: 北京林业大学硕士学位论文, 2020.

PAN Z Y. Effects of three secondary metabolites on the growth and development and detoxification enzyme activities in *Hyphantria cunea*. Master Thesis. Beijing: Beijing Forestry University, 2020.

[38] DAVID J P, STRODE C, VONTAS J, NIKOU D, VAUGHAN A, PIGNATELLI P M, LOUIS C, HEMINGWAY J, RANSON H. The *Anopheles gambiae* detoxification chip: a highly specific microarray to study metabolic-based insecticide resistance in malaria vectors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102(11): 4080-4084.

(责任编辑 魏晓燕)

2024 年 1 月国际市场主要畜产品与饲料价格分析

1 月国际饲料价格除棉籽饼外，其他饲料价格均下降；畜产品市场价格除鸡肉外，其他饲料价格均上涨。

一、国际饲料价格除棉籽饼外，其他饲料价格均下降

1 月份棉籽饼的平均价格分别 414.95 USD·t⁻¹，环比上涨 0.35%。玉米、大豆、高粱、豆粕、菜籽、豆粉和苜蓿粉的平均价格为 165.17、452.99、278.11、396.86、477.79、371.25 和 419.03 USD·t⁻¹，环比分别下降 4.31%、5.91%、0.63%、11.45%、4.66%、17.49% 和 1.94%。

二、畜产品市场价格除鸡肉外，其他畜产品价格上涨

1 月份欧盟鸡肉的平均价格为 3.41 USD·kg⁻¹，环比下降 0.20%。瘦肉猪、育肥牛和牛奶的市场价格为 1.58、5.06 和 0.38 USD·kg⁻¹，环比分别上涨 3.64%、4.07% 和 0.68%。

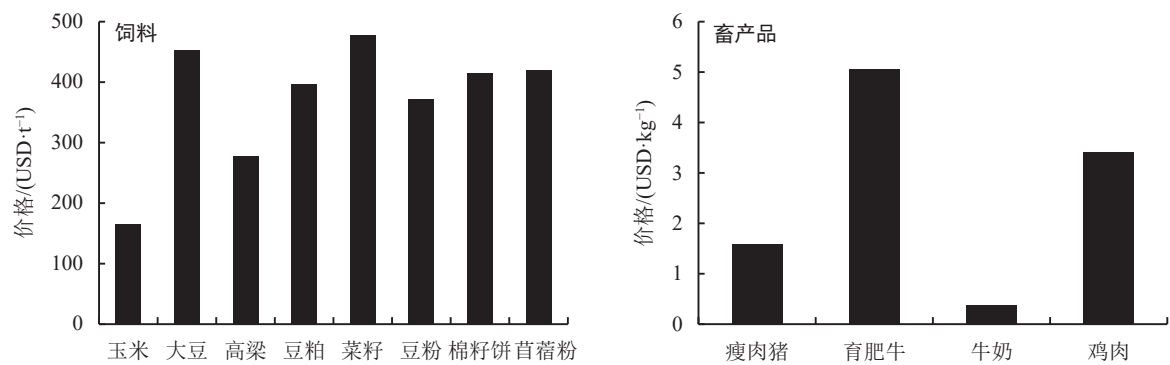


图 1 月国际市场主要饲料与畜产品价格

数据来源：国际市场商品价格网 <http://price.mofcom.gov.cn/>；鸡肉 <http://www.indexmundi.com/>；货币汇率 <http://qq.ip138.com/hl.asp>。

(兰州大学草地农业科技学院 谢凯丽 整理)