

单宁酸对豌豆蚜 CYP4 和 CYP6 家族基因表达的影响*

黄琦** 于展姿 孙勤哲 刘欢 向兴 王森山 宋丽雯 刘磊***

(甘肃农业大学植物保护学院, 甘肃省农作物病虫害生物防治工程实验室, 兰州 730070)

摘要 【目的】细胞色素 P450 酶基因在植食性昆虫代谢寄主植物次生物质中发挥重要的作用, 研究 CYP450 响应植物次生物质的转录水平对于害虫的防治具有指导意义。本研究旨在探究单宁酸对豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* 细胞色素 P450s 酶活性及 CYP4 和 CYP6 家族基因表达的影响。【方法】分别用 0.5、1 和 2 g·L⁻¹ 单宁酸处理 3 龄和 4 龄豌豆蚜 48 h, 测定其体内 CYP450s 酶活性, 并分析豌豆蚜 CYP4 和 CYP6 家族基因在不同组织响应单宁酸的表达模式。【结果】以取食清水处理后蚕豆叶片的豌豆蚜为对照。2.0 g·L⁻¹ 单宁酸处理可诱导 2 个龄期豌豆蚜 CYP450 酶活性显著升高 ($P < 0.05$)。取食单宁酸 48 h 后, 头部有 11 个基因表达显著上调 ($P < 0.05$), 其中 *ApCYP4C1014*、*ApCYP4C1019* 和 *ApCYP6A1401* 表达量分别为对照的 3.13、3.02 和 3.93 倍; 腹部有 14 个基因显著上调, 包括 *ApCYP4C109*、*ApCYP4C1011* 等 9 个基因与对照相比上调超 5 倍 ($P < 0.05$); 中肠 *ApCYP4C1021* 和 *ApCYP6A1305* 与对照相比分别上调 2.90 和 2.03 倍 ($P < 0.05$)。【结论】CYP4 和 CYP6 家族基因可能参与豌豆蚜对单宁酸的代谢。

关键词 豌豆蚜; 单宁酸; CYP450s; 解毒代谢; 植物次生物质

Effect of tannic acid on the expression of CYP4 and CYP6 family genes in *Acyrtosiphon pisum*

HUANG Qi** YU Zhan-Zi SUN Qin-Zhe LIU Huan XIANG Xing
WANG Sen-Shan SONG Li-Wen LIU Lei***

(Engineering Laboratory of Crop Diseases and Pests of Gansu Province, College of Plant Protection,
Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract [Aim] To investigate the effect of tannic acid on cytochrome P450s enzyme activity and related gene expression in the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. [Methods] 3rd and 4th instar pea aphids were treated with tannic acid at doses of 0.5, 1 or 2 g·L⁻¹ for 48 h, respectively. [Results] Pea aphids fed on broad bean leaves treated with clean water served as the control. The 2.0 g·L⁻¹ tannic acid treatment induced a significant increase in CYP450 enzyme activity in both instars ($P < 0.05$). Eleven genes in the head were significantly up-regulated after 48 h of tannic acid treatment ($P < 0.05$), among these the expression levels of *ApCYP4C1014*, *ApCYP4C1019* and *ApCYP6A1401* were 3.13-fold, 3.02-fold, and 3.93-fold higher than those of the control, respectively. Fourteen genes were significantly up-regulated in the abdomen, including nine, such as *ApCYP4C109* and *ApCYP4C1011*, which were up-regulated more than 5-fold ($P < 0.05$). *ApCYP4C1021* and *ApCYP6A1305* were up-regulated in the mid-gut 2.90-fold and 2.03-fold, respectively ($P < 0.05$). [Conclusion] The results suggest that CYP4 and CYP6 family genes may be involved in the metabolism of tannic acid by the pea aphid.

Key words *Acyrtosiphon pisum*; tannic acid; CYP450s; detoxification metabolism; plant secondary metabolites

*资助项目 Supported projects: 甘肃省现代寒旱特色农业羊产业技术体系建设专项资金 (GSARS02); 国家自然科学基金 (32560650); 甘肃省教育厅: 青年博士支持项目 (2025QB-049); 郑州华丰草业科技有限公司横向项目 (GSAU-JSFW-2025-20); 苜蓿种质资源抗豌豆蚜品种创制 (GYGG-2024-7); 甘肃省青年科技基金 (24JRRA662)

**第一作者 First author, E-mail: 2468996245@qq.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: liulei1@gsau.edu.cn

收稿日期 Received: 2025-11-20; 接受日期 Accepted: 2026-02-01

豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* 属半翅目 Hemiptera 蚜科 Aphididae, 以刺吸式口器取食植物韧皮部汁液, 是多种植物病毒的传播媒介, 具有发育历期短、生殖期长、世代重叠等特点, 严重危害苜蓿 *Medicago sativa*、蚕豆 *Vicia faba*、豌豆 *Pisum sativum* 等豆科作物的生长 (马亚玲和刘长仲, 2014)。

在植物与昆虫协同进化过程中, 植物已经形成了各种各样的防御机制以抵御昆虫取食, 其中, 植物次生代谢化合物是最重要的防御策略之一, 如异黄酮类、呋喃香豆素、萜类化合物、生物碱和单宁等 (Cui *et al.*, 2016)。植物次生物质能改变昆虫对寄主植物的选择、取食和利用, 从而对昆虫的行为及生长发育等方面产生不利影响, 甚至具有毒杀作用 (War *et al.*, 2020)。

为了克服植物次生物质的影响, 植食性昆虫通过对植物次生物质进行代谢与转运以瓦解植物防御。其中, 昆虫细胞色素 P450 酶 (CYP450) 在昆虫对植物次生物质的解毒代谢中发挥着重要作用 (陈澄宇等, 2015; Lu *et al.*, 2021), 细胞色素 P450 通过在消化道、脂肪体、分泌腺和表皮组织等将外源化合物降解为亲水性更强且毒性较小的形式 (Cui *et al.*, 2016), 从而削弱植物次生物质对昆虫的毒性, 赋予昆虫对外源物质的抵抗。而抑制 CYP450 酶活会导致昆虫对植物次生物质的敏感性上升。

研究表明, CYP4 和 CYP6 家族基因参与了众多昆虫对植物次生物质的代谢, 如降低 CYP6 家族基因的转录水平, 导致温室白粉虱 *Trialeurodes vaporariorum* 和烟粉虱 *Bemisia tabaci* 对烟碱的敏感性增加, 分别降低 CYP4 和 CYP6 家族基因的转录水平, 显著增加烟碱对烟蚜 *Myzus persicae nicotianae* 的毒性 (Pan *et al.*, 2019; Pym *et al.*, 2024)。CYP4 和 CYP6 家族基因均参与了棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 和棉蚜 *Aphis gossypii* 对棉酚的代谢 (Mao *et al.*, 2007; Jin *et al.*, 2019)。分别降低 CYP4 家族多个基因的转录水平, 引起赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* 对丁香酚的敏感性增强 (Zhang *et al.*, 2022)。RNA 干扰 *TcCYP6BQ7* 的转录水平, 导

致艾蒿精油处理后赤拟谷盗幼虫的死亡率增加 (Zhang *et al.*, 2021)。RNA 干扰 CYP6 家族基因的表达量, 导致斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 幼虫对花椒毒素、香豆素和黄酮等植物次生物质的敏感性增加 (Wang *et al.*, 2015b)。干扰 *CYP6AE221* 基因后, 导致马铃薯块茎蛾 *Phthorimaea operculella* 对 α -茄碱更敏感 (闫寒等, 2024)。同时, 异源表达的昆虫 CYP6 家族基因编码的蛋白证实其可以代谢植物次生物质 (Xiong *et al.*, 2025)。以上研究表明 CYP4 和 CYP6 家族基因在昆虫对植物次生物质的代谢中发挥关键的作用。

单宁酸属于天然多酚化合物, 广泛存在于苜蓿、蚕豆等豆科作物体内。Ma 等 (2019) 发现, 降低 *CYP4CJ1* 的表达, 会增加棉蚜对单宁酸的敏感性。但单宁酸对豌豆蚜 CYP4 和 CYP6 家族基因转录水平的影响尚不清楚。为了明确单宁酸对豌豆蚜 P450s 酶活和基因表达的影响, 本研究在室内用单宁酸饲喂豌豆蚜, 测定了豌豆蚜取食单宁酸后的 P450s 酶活; 通过荧光定量 PCR 分析了豌豆蚜取食单宁酸后 CYP4 和 CYP6 家族基因的转录水平, 研究结果对于揭示 CYP4 和 CYP6 家族基因在豌豆蚜适应单宁酸中的功能提供了理论基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试植物材料 蚕豆种子用清水泡 2-3 d, 播种于底部打孔的塑料杯 (d=5 cm, h=10 cm) 中, 每杯 2 粒种子, 覆盖营养基质土。放置于人工气候培养箱 (型号: QRGN-800-3, 杭州琦胜电子科技有限公司) 中培养, 设置参数为温度 (20±1) °C, 相对湿度 70%±5%, 光周期 16 L : 8 D, 待蚕豆幼苗长至 4 叶期时接种蚜虫。

1.1.2 供试昆虫 供试虫源: 绿色型豌豆蚜由甘肃农业大学植物保护学院昆虫生态实验室提供, 单头豌豆蚜在蚕豆苗上扩繁作为虫源, 光照培养箱 (型号: HGZ-H250, 上海跃进医疗器械有限公司) 设置参数为温度 (20±1) °C, 相对湿度

70%±5%，光周期 16 L:8 D 条件下扩繁。待豌豆蚜发育至成蚜后，在离体叶片上饲养（同等饲养条件），产蚜 12 h 后将成蚜挑出，选取适龄若蚜用于试验。

1.2 单宁酸处理

处理方法：试验设置对照和处理两组。采用植物介导法（张育霞等，2023），将不同浓度单宁酸（0.5、1 和 2 g·L⁻¹）添加于 1.5 mL 的棕色离心管中，防止单宁酸见光分解；将剪下的蚕豆苗置于离心管中，然后将离心管转移到覆盖着纱布的透明塑料杯中，挑取 3 龄与 4 龄若蚜置于塑料杯中的蚕豆苗上，置于人工气候箱内饲养，每日 8:00 与 20:00 用一次性针管补满棕色离心管中的单宁酸溶液。以清水处理的蚕豆叶苗做对照，30 头豌豆蚜为一个处理，每个处理重复 3 次。处理 48 h 后取样放于 1.5 mL 离心管中，用液氮处理过后放于 -80 °C 冰箱以备酶活性测定。随后，待 3 龄若蚜摄入 2 g·L⁻¹ 单宁酸 48 h

后，取样并解剖，收集豌豆蚜头、胸、腹（不含中肠）、中肠 4 个组织，用于不同组织的表达量检测。

1.3 酶活测定

从 -80 °C 冰箱取出样本，加入 1 mL 生理盐水后用高通量组织研磨器（型号：TissueLyser II，德国凯杰公司）在冰上进行研磨，将研磨液置于高速冷冻离心机内，在 4 °C，3 000 r/min 离心 10 min，用移液枪吸取适量上清液，用于后续酶活的测定。酶活测定试剂盒购自上海优选生物科技有限公司，严格按照说明书中的步骤操作。

1.4 引物设计

根据 Nr 蛋白数据库中进行 Blast 注释和分类，鉴定筛选豌豆蚜细胞色素 P450s 酶基因序列，特异性引物在 <http://bioinfo.ut.ee/primer3/> 中设计（表 1）。合成由生工生物工程股份（上海）有限公司完成。引物序列如表 1。

表 1 CYP450 基因定量 PCR 引物

Table 1 The primers used for quantitative PCR (qPCR) of CYP450 genes

基因名称 Gene name	上游 (5'-3') Upstream (5'-3')	下游 (5'-3') Downstream (5'-3')
<i>EF-1α</i>	CTGTGCTTATTGTCGCTGCT	TCGCTGTATGGTGGTTCAGT
<i>RPI7</i>	TTGAAGAGCGTAAGGGAAGCTG	TATTGGTGATTGGAATGCGTTG
<i>ApCYP4C101</i>	AGGACAGATCGTGAGCAGAA	ATCCGCCATTTGTCAACTGG
<i>ApCYP4C103</i>	GTGCTTTCGTGAAACTTGC	TGCCATTTCTGACCTGAGCT
<i>ApCYP4C105</i>	AGTGCTACGCCTTTACCCAT	AATGGTACGAAGCAAAGCG
<i>ApCYP4C106</i>	ACATCGCTTTGCCTTCGTAC	CCCAACAAGCCCCAACTTTT
<i>ApCYP4C107</i>	GCAGTCGGTTCGGTGAATTTA	GTGCTGAGCCAATGATAGGG
<i>ApCYP4C109</i>	AGTCCATTAGCCACCCATCG	TGCAATCCGTATGAACACTGT
<i>ApCYP4C1010</i>	CCCCGAATGACCAGTACTGA	TACCAACAAACTCGAGCCCT
<i>ApCYP4C1011</i>	CCAGCGTACCCTTTCATTGG	TCCGGTTTGACAATGACGAC
<i>ApCYP4C1014</i>	TTTGGCGGGAGTGAAGAAAC	GGTGTGTGGTTATTGGGCAT
<i>ApCYP4C1015</i>	AGAATGGCCATACACAACGC	GTGGGCCCTTTAACTTGTGCG
<i>ApCYP4C1019</i>	CTACAAGGACCGGAACAACCTATCT	CCCATGATGGATTCTTGTAACCA
<i>ApCYP4C1020</i>	ATACATTCCATTTCGGTTCGG	ACGTCCTGGTTCATTTTG
<i>ApCYP4C1021</i>	TACTCGGGGACAATAGCGAC	TGCTCAAGTACCACGGATGT
<i>ApCYP4G1502</i>	GCACCAATTGACAAATGGCG	TGGTGCAATGTAGTCCCAGA
<i>ApCYP4G1503</i>	CCAGCATACCCGTTCATTGG	CCTTCGCCCCGTAACATGTTT
<i>ApCYP4G1504</i>	TGCCAAAAGGAACAACGTGT	TGGATCCTATGCAACCCCTT
<i>ApCYP6A1301</i>	TCGGCGTTC AAGGAGGTTAT	TTCCTGGACGTCTTGGTTCA
<i>ApCYP6A1302</i>	TGGGAAAAGCTAAACGTGCC	GAGTAGATAACCACGGTCGGG
<i>ApCYP6A1303</i>	TCAAGCCGATTCCGTTGTTC	GCGGTTGGGGAAAGAAGAGA
<i>ApCYP6A1306</i>	GGAAAAGCTCAACGTGCCTT	CGAACCATCAAATACGGCGT
<i>ApCYP6A1304</i>	ATCACAAGTTTGCCGTCAC	GGATTGGCCTTGAAGTCCAC

续表 1 (Table 1 continued)

基因名称 Gene name	上游 (5'-3') Upstream (5'-3')	下游 (5'-3') Downstream (5'-3')
<i>ApCYP6A1305</i>	GCATTCACGTCGGGAAACT	GCGTTCAACTTGAGCCCAA
<i>ApCYP6A1308</i>	CCTCCAGTGGTTGCTTTGTT	TGGAAGATGAATGCCGCTTG
<i>ApCYP6A1309</i>	TTCACGGACCGCGGATTATA	GTCATCGTCCAGGTTCTTGC
<i>ApCYP6A1401</i>	GCAACAGTTCTTCATGGGCA	CAGCCAGGAAGAACACGAAC
<i>ApCYP6A1403</i>	GAAGAAATGCGCGACGAGA	GGCAGAATTTCGAATTGGGC
<i>ApCYP6A13012</i>	GCTGCTGGATTTGAAACCGT	AAGCAAAGGTCGGTGGATAC
<i>ApCYP6K101</i>	AAACCGAACCCCTGTCAGAA	TTTTGCCACAACATCTCGCA
<i>ApCYP6K103</i>	GCGTTCACATCGGGAAACT	TAACGCCAGTCCAAAAGCAC
<i>ApCYP6K109</i>	CAACGCGATACTGGTCAAGG	CACTGCACTCGTTGATCTGG

1.5 RNA 提取、反转录与 qPCR

采用 Trizol 法提取豌豆蚜 RNA, 利用 Prime Script RT reagent kit 试剂盒进行反转录。荧光定量 PCR 根据 NovoStart[®] SYBR qPCR SuperMix Plus 试剂盒进行。以 *EF-1 α* 和 *RPI7* 为内参, 每个样品设置 3 个重复。

1.6 数据分析

采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目标基因的相对表达量 (Livak and Schmittgen, 2001), 基因表达量差异比较采用 SPSS 26.0 软件进行统计分析。差异显著性用单因素方差 (One-way ANOVA) 和独

立样本 *t* 检验 (Independent samples *t*-test) 进行分析 (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$), 使用 Origin 2018 软件进行绘图。

2 结果与分析

2.1 豌豆蚜取食不同浓度单宁酸后体内 P450s 酶活性变化

豌豆蚜 3 龄若蚜取食不同浓度单宁酸后体内 P450s 酶活性变化测定结果见图 1 (A), 随着单宁酸浓度的升高, 3 龄豌豆蚜体内的 P450s 酶活性呈上升趋势, 且 3 个处理浓度下均显著高于以取食清水处理后蚕豆叶片豌豆蚜的对照组

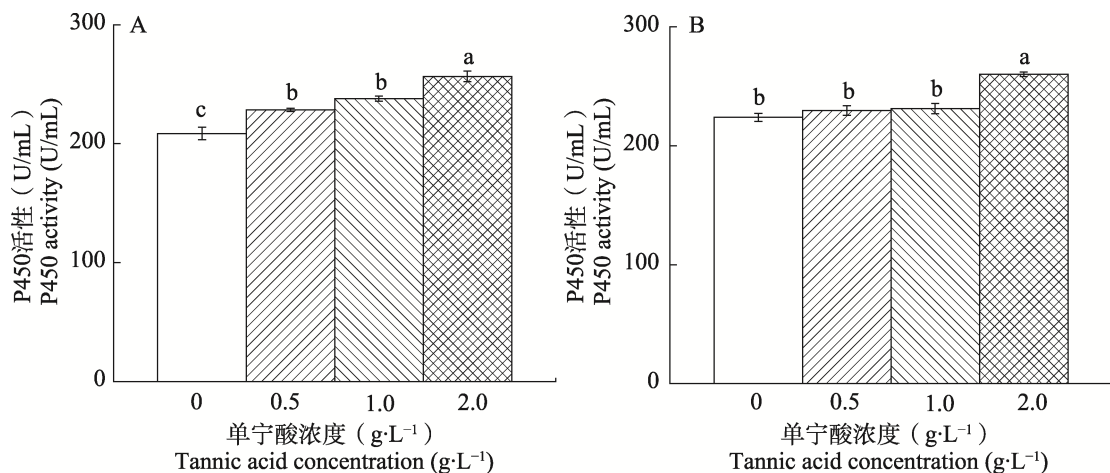


图 1 豌豆蚜取食不同浓度单宁酸后体内 P450 酶活性

Fig. 1 The activities of P450 enzyme in the *Acyrthosiphon pisum* after feeding on different concentrations of tannic acid

A. 3 龄若蚜; B. 4 龄若蚜。图中数据均为平均值±标准误, 柱上不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$, one-way ANOVA)。

A. 3rd instar nymphs; B. 4th instar nymphs. Data in the figure are mean±SE, and different letters above bars indicate significant difference ($P < 0.05$, one-way ANOVA).

($P<0.05$), 在单宁酸浓度为 $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时达到最高, 为 $(256.5\pm 4.39) \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$, 与对照组、 0.5 和 $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 单宁酸处理下的酶活性间均差异显著 ($P<0.05$)。豌豆蚜 4 龄若蚜取食不同浓度单宁酸后体内 P450s 酶活性变化测定结果见图 1(B), 结果表明, 取食 $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 单宁酸后, 4 龄豌豆蚜体内的 P450s 酶活性为 $(260.3\pm 1.88) \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$, 显著高于对照组 ($P<0.05$)。

2.2 豌豆蚜头部细胞色素 P450s 基因 qPCR 分析

利用 qPCR 技术分析豌豆蚜 3 龄若蚜取食 $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 单宁酸 48 h 后其头部细胞色素 P450s 基因表达水平变化, 结果表明, 与对照相比共有 11 个 P450s 基因显著上调表达, 其中 *ApCYP4C1014*、*ApCYP4C1019* 和 *ApCYP6A1401* 分别上调 3.13、3.02 和 3.93 倍, *ApCYP4C105*、*ApCYP4C109*、*ApCYP4C1011*、*ApCYP4C1021*、*ApCYP6A1302*、*ApCYP6A1306* 和 *ApCYP6K103* 上调表达 2 倍左

右 ($P<0.05$) (图 2: A); 而有 10 个基因显著下调表达, 其中 *ApCYP4C101* 下调 15 倍, *ApCYP4C103*、*ApCYP4G1503*、*ApCYP4G1504*、*ApCYP6A1301*、*ApCYP6A1305*、*ApCYP6A1308* 和 *ApCYP6A1309* 分别下调 4.78、2.22、5.01、4.92、2.4、6.54 和 2.34 倍 ($P<0.05$) (图 2: B)。

2.3 豌豆蚜胸部细胞色素 P450s 基因 qPCR 分析

对豌豆蚜取食单宁酸 48 h 后其胸部细胞色素 P450s 基因表达量进行分析 (图 3: A, B), 结果显示, 与对照相比, 有 2 个基因表达显著上调, *ApCYP4C1019* 和 *ApCYP6A1308* 分别上调 1.41 和 1.53 倍 ($P<0.05$); 有 15 个基因显著下调, 其中 *ApCYP4C1014*、*ApCYP4C1015*、*ApCYP4G1502*、*ApCYP4G1504*、*ApCYP6A1302*、*ApCYP6A13012*、*ApCYP6K101* 和 *ApCYP6K103* 分别下调 34.6、28.5、49.7、25.6、11.6、12.66、12.27、12.17 倍, 其余基因均下调表达 10 倍以下 ($P<0.05$)。

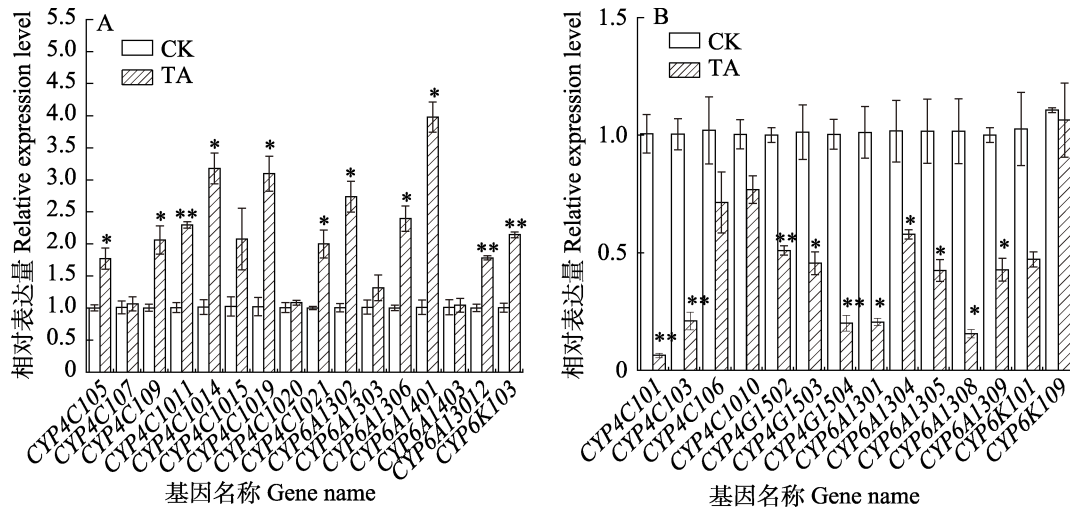


图 2 豌豆蚜取食单宁酸 48 h 后细胞色素 P450s 基因在头部的表达量

Fig. 2 The expression of cytochrome P450s gene in the head of *Acyrthosiphon pisum* after 48 h feeding on tannic acid

A. 上调基因; B. 下调基因。CK: $0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 单宁酸; TA: $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 单宁酸。图中数据均为平均值 \pm 标准误, 柱上星号表示显著差异 (* $P<0.05$, ** $P<0.01$, 独立样本 t 检验)。下图同。

A. Up-regulated genes; B. Down-regulated genes. CK: $0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ tannic acid; TA: $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ tannic acid. Data in the figure are mean \pm SE, and asterisks above bars indicate significant difference (* $P<0.05$, ** $P<0.01$, independent samples t -test). The same below.

2.4 豌豆蚜腹部细胞色素 P450s 基因 qPCR 分析

对豌豆蚜取食单宁酸 48 h 后其腹部细胞色

素 P450s 基因表达量进行分析, 结果表明, 与对照相比共有 14 个基因显著上调 (图 4: A), 其中 *ApCYP4C109*、*ApCYP4C1011*、*ApCYP4C1015*、

ApCYP4G1503、*ApCYP6A1302*、*ApCYP6A1303*、*ApCYP6A1308*、*ApCYP6A1403* 和 *ApCYP6A13012* 分别上调表达 7.63、5.64、8.34、5.87、5.68、8.14、5.72、7.07 和 7.38 倍；*ApCYP4C107*、*ApCYP4C1019*、*ApCYP4C1020*、*ApCYP4C1021* 和 *ApCYP6A1401* 分别表达上调 3.32、4.13、4.94、4.44 和 2.78 倍 ($P < 0.05$)。有 5 个基因显著下调表达 (图 4: B)，*ApCYP4G1504* 和 *ApCYP6A1305* 的下调表达倍数

分别为 2.76 和 1.84 倍，其余基因 *ApCYP4C103*、*ApCYP4C1014* 和 *ApCYP6A1301* 下调表达 1 倍左右 ($P < 0.05$)。

2.5 豌豆蚜中肠细胞色素 P450s 基因 qPCR 分析

利用 qPCR 技术分析豌豆蚜取食单宁酸 48 h 后其中肠细胞色素 P450s 基因表达量的变化。结果表明，与对照相比有 3 个基因显著上调 (图 5:

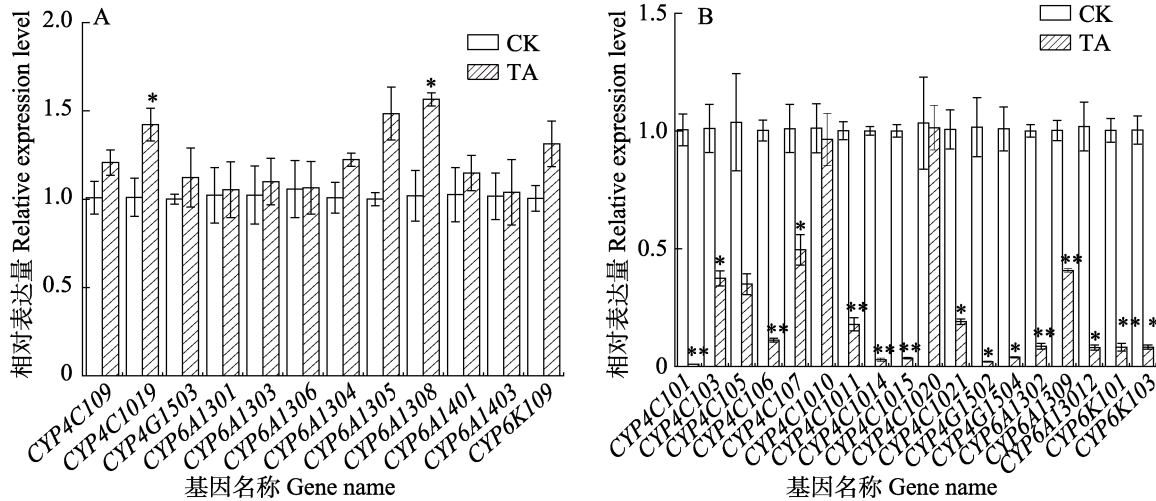


图 3 豌豆蚜取食单宁酸 48 h 后细胞色素 P450s 基因在胸部的表达量
Fig. 3 The expression of cytochrome P450s gene in the thorax of *Acyrthosiphon pisum* after 48 h feeding on tannic acid

A. 上调基因; B. 下调基因。A. Up-regulated genes; B. Down-regulated genes.

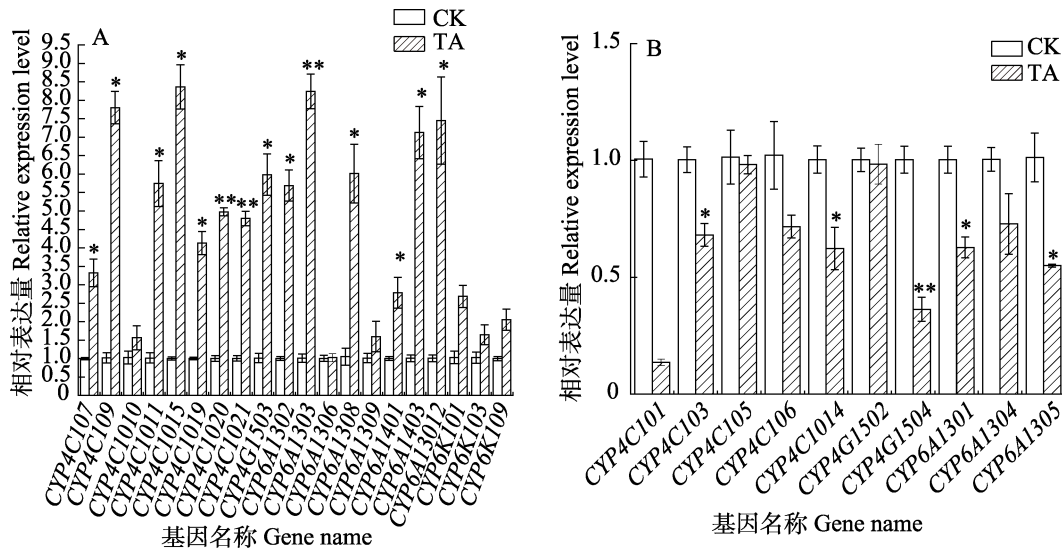


图 4 豌豆蚜取食单宁酸 48 h 后细胞色素 P450s 基因在腹部的表达量变化
Fig. 4 The expression of cytochrome P450s gene in the abdomen of *Acyrthosiphon pisum* after 48 h feeding on tannic acid

A. 上调基因; B. 下调基因。A. Up-regulated genes; B. Down-regulated genes.

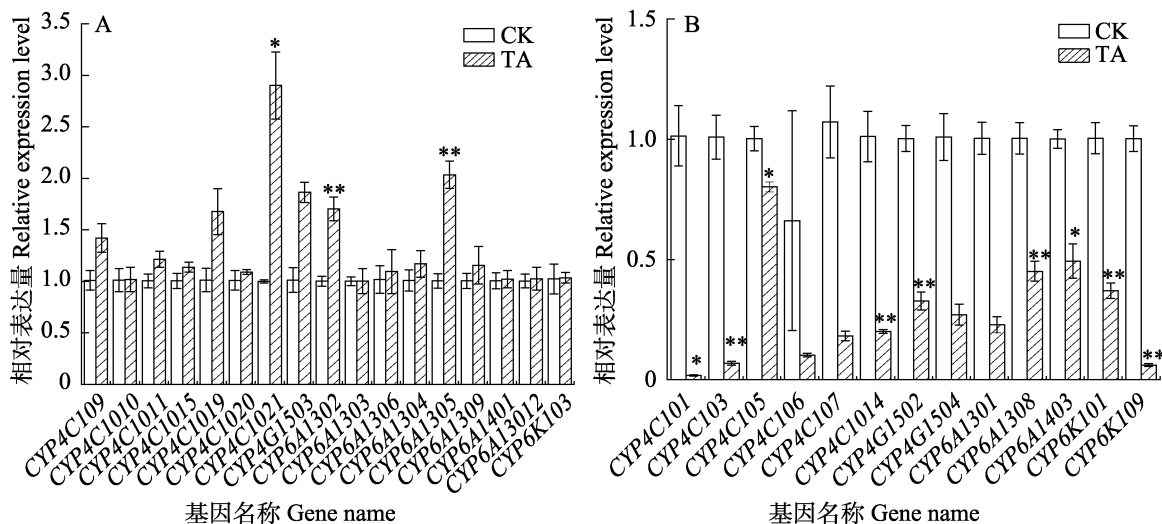


图 5 豌豆蚜取食单宁酸 48 h 后细胞色素 P450s 基因在中肠的表达量变化
 Fig. 5 The expression of cytochrome P450s gene in the midgut of *Acyrtosiphon pisum* after 48 h feeding on tannic acid

A. 上调基因; B. 下调基因。A. Up-regulated genes; B. Down-regulated genes.

A), *ApCYP4C1021*、*ApCYP6A1302*、*ApCYP6A1305* 的分别上调 2.90、1.70、2.03 倍 ($P < 0.05$); 同时,有 9 个基因显著下调(图 5:B),*ApCYP4C101* 下调 60 倍, *ApCYP4C103*、*ApCYP4C1014*、*ApCYP4G1502* 的下调表达倍数分别为 14.76、5.05、3.06, 其余下调基因的下调表达倍数在 3 倍以下 ($P < 0.05$)。

3 讨论

CYP450 酶在昆虫代谢外源物质中发挥着重要作用。研究表明,植物次生物质会诱导昆虫 CYP450 酶活性升高,草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 分别取食黄酮、棉酚和水杨酸后, CYP450 酶含量显著增加(王柄权等, 2022)。绿原酸处理后,美国白蛾 *Hyphantria cunea* CYP450 酶活性显著升高(潘忠玉等, 2020)。斜纹夜蛾和棉铃虫 CYP450 酶含量同样受到植物次生物质肉桂酸和香豆素的诱导(王瑞龙等, 2012)。类似地,槲皮素处理诱导家蚕 *Bombyx mori* 幼虫 CYP450 酶活性上升(Zhang *et al.*, 2012)。 α -茄碱诱导马铃薯块茎蛾幼虫体内 CYP450 酶活性上升(闫寒等, 2024)。单宁酸、芦丁、烟碱和苦参碱等均诱导亚洲小车蝗

Oedaleus asiaticus CYP450 酶活性升高(黄训兵等, 2021)。本研究发现,不同龄期豌豆蚜取食不同浓度单宁酸后,体内 P450s 酶活性均有不同程度的上升,表明 CYP450 酶可能参与了豌豆蚜对单宁酸的解毒代谢。研究发现,取食含有番茄素的人工饲料后,斜纹夜蛾中肠和脂肪体组织中 P450s 酶活性显著增加(Sun *et al.*, 2019),花椒毒素处理导致斜纹夜蛾中肠和脂肪体组织中 P450s 酶活性增加(Wang *et al.*, 2015a; Lu *et al.*, 2019),表明中肠和脂肪体是昆虫代谢外源物质的重要组织。

研究发现, CYP4 和 CYP6 家族基因在昆虫受到植物次生物质处理后上调。芳香醇诱导香樟齿喙象 *Pagiophloeus tsushimanus* CYP4 基因显著上调(王璟廷等, 2023)。亚洲小车蝗 *CYP6K1* 基因的表达量与植物次生化化合物的含量呈正相关(Huang *et al.*, 2017)。赤拟谷盗 *TcCYP4Q3*、*TcCYP4Q5*、*TcCYP4Q7* 和 *TcCYP6BQ7* 的转录水平在丁香酚或艾蒿精油处理后显著上调(Zhang *et al.*, 2021, 2022)。取食含有棉酚的人工饲料后,棉蚜 *CYP6DA2* 和 *CYP4CJ1* 的转录水平显著增加(Peng *et al.*, 2016)。同时,槲皮素处理导致美国白蛾幼虫 *CYP6ZB2* 和家蚕幼虫 *CYP6AB5*

与 *CYP6B29* 的表达量被显著诱导 (邵红扬等, 2023)。分别取食含有番茄素和棉酚的人工饲料后, 棉铃虫 *CYP6B7* 或 *CYP6AE14* 的转录水平显著增加 (Mao *et al.*, 2007; Chandra *et al.*, 2016)。香豆素处理导致斜纹夜蛾幼虫 *CYP6AB60* 和 *CYP6AB14* 等多个细胞色素 P450s 基因的转录水平升高 (王瑞龙等, 2012; Wang *et al.*, 2015b)。本研究结果表明, 单宁酸处理后, 包含 *ApCYP4C1014*、*ApCYP4C1019* 和 *ApCYP6A1401* 在内多个基因的表达量在豌豆蚜头部显著上调, 可能是由于头部包含唾液腺的原因, 唾液腺基因的转录影响昆虫的取食。与本研究的结果相似, 棉蚜在单宁酸处理后, 体内 *CYP4CJ1*、*CYP6CY19*、*CYP6CY22* 和 *CYP6DA1* 等多个细胞色素 P450 基因的表达被诱导 (Li *et al.*, 2017, 2019; Ma *et al.*, 2019)。

众多研究表明, 昆虫 CYP4 和 CYP6 家族基因在中肠和脂肪体中受到植物次生物质诱导。花椒毒素和番茄素处理导致斜纹夜蛾中肠和脂肪体 *CYP6AB60*、*CYP6AB14*、*CYP6B48* 转录水平显著升高 (Wang *et al.*, 2015b; Sun *et al.*; 2019)。多种次生物质均可诱导斜纹夜蛾脂肪体 *CYP4M14* 和 *CYP4S9* 基因上调表达 (王瑞龙等, 2012)。本研究发现, *ApCYP4C1020*、*ApCYP4C1021* 和 *ApCYP6A1303* 等多个基因的转录水平在腹部显著上调, 表明脂肪体可能参与了豌豆蚜对单宁酸的代谢。同时, 有研究表明, 辣椒素引起棉铃虫和烟青虫 *Helicoverpa assulta* 中肠 *CYP6B6* 的表达量升高 (Xiong *et al.*, 2025)。花椒毒素处理会导致斜纹夜蛾中肠 *CYP6B50* 被诱导 (Lu *et al.*, 2019)。槲皮素处理导致斜纹夜蛾幼虫中肠中 *CYP6B48* 的转录水平升高 (Wang *et al.*, 2015a)。D-樟脑、芳樟醇和桉叶油醇胁迫下, *CYP6HX3* 基因在香樟齿喙象幼虫中肠组织上调表达 (王璟廷等, 2023; Li *et al.*, 2025)。在 α -茄碱胁迫下, *CYP6AE221* 在马铃薯块茎蛾肠道高表达 (闫寒等, 2024)。本研究结果显示, 单宁酸处理后, *ApCYP4C1021*、*ApCYP6A1302* 和 *ApCYP6A1305* 在豌豆蚜中肠显著过表达, 表明中肠也可能参与了豌豆蚜对单宁酸的代谢。

4 结论

本研究结果表明, 豌豆蚜体内 CYP450 酶活和 CYP4 和 CYP6 家族多个基因的转录均受到单宁酸诱导, 尤其在豌豆蚜的中肠和脂肪体被诱导。暗示 CYP4 和 CYP6 家族基因在豌豆蚜代谢单宁酸中发挥着关键的作用。未来可对关键 CYP4 和 CYP6 家族基因进行 RNA 干扰, 以明确其在豌豆蚜适应单宁酸中的功能。

参考文献 (References)

- Cheng DY, Kang ZJ, Shi XY, Gao XW, 2015. Metabolic adaptation mechanisms of insects to plant secondary metabolites and their implications for insecticide resistance of insects. *Acta Entomologica Sinica*, 58(10): 1126–1139. [陈澄宇, 康志娇, 史雪岩, 高希武, 2015. 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*, 58(10): 1126–1139.]
- Chandra G, Sharath R, Chandra G, Asokan R, Manamohan M, Sita T, 2016. Cytochrome P450 isoforms transcriptional, larval growth and development responses to host allelochemicals in the generalist herbivore, *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Current Science*, 111(5): 901–906.
- Cui SF, Wang L, Ma L, Geng XQ, 2016. P450-mediated detoxification of botanicals in insects. *Phytoparasitica*, 44: 585–599.
- Huang X, Ma J, Qin X, Tu X, Cao G, Wang G, Nong X, Zhang Z, 2017. Biology, physiology and gene expression of grasshopper *Oedaleus asiaticus* exposed to diet stress from plant secondary compounds. *Scientific Reports*, 7(1): 8655.
- Huang XB, Li H, Tu XB, Zhang ZH, 2021. Effects of four plant-derived compounds on the survival rate and activities of detoxification enzymes and protective enzymes in the grasshopper *Oedaleus asiaticus*. *Journal of Plant Protection*, 48(1): 158–164. [黄训兵, 李辉, 涂雄兵, 张泽华, 2021. 四种植物源化合物对亚洲小车蝗存活率、解毒酶和保护酶活性的影响. *植物保护学报*, 48(1): 158–164.]
- Jin M, Liao C, Fu X, Holdbrook R, Wu K, Xiao Y, 2019. Adaptive regulation of detoxification enzymes in *Helicoverpa armigera* to different host plants. *Insect Molecular Biology*, 28(5): 628–636.
- Li F, Ma KS, Liang PZ, Chen XW, Liu Y, Gao XW, 2017. Transcriptional responses of detoxification genes to four plant allelochemicals in *Aphis gossypii*. *Journal of Economic Entomology*, 110(2): 624–631.

- Li F, Ma KS, Chen X, Zhou JJ, Gao XW, 2019. The regulation of three new members of the cytochrome P450 CYP6 family and their promoters in the cotton aphid *Aphis gossypii* by plant allelochemicals. *Pest Management Science*, 75(1): 152–159.
- Li SY, Guo JY, Li H, Hao DJ, 2025. Involvement of a novel cytochrome P450 CYP6HX3 from a specialist herbivore, *Pagiophloeus tsushimanus*, in the metabolism of host-plant terpenoids. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 210: 106366.
- Livak KJ, Schmittgen TD, 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method. *Methods*, 25(4): 402–408.
- Lu K, Cheng Y, Li W, Ni H, Chen X, Li Y, Tang B, Li Y, Chen D, Zeng R, Song Y, 2019. Copper-induced H_2O_2 accumulation confers larval tolerance to xanthotoxin by modulating CYP6B50 expression in *Spodoptera litura*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 159: 118–126.
- Lu K, Song YY, Zeng RS, 2021. The role of cytochrome P450-mediated detoxification in insect adaptation to xenobiotics. *Current Opinion in Insect Science*, 43: 103–107.
- Ma K, Li F, Tang Q, Liang P, Liu Y, Zhang B, Gao X, 2019. CYP4CJ1-mediated gossypol and tannic acid tolerance in *Aphis gossypii* Glover. *Chemosphere*, 219: 961–970.
- Ma YL, Liu CZ, 2014. Review on ecological characteristics and control of aphids. *Pratacultural Science*, 31(3): 519–525. [马亚玲, 刘长仲, 2014. 蚜虫的生态学特性及其防治. 草业科学, 31(3): 519–525.]
- Mao YB, Cai WJ, Wang JW, Hong GJ, Tao XY, Wang LJ, Huang YP, Chen XY, 2007. Silencing a cotton bollworm P450 monooxygenase gene by plant-mediated RNAi impairs larval tolerance of gossypol. *Nature Biotechnology*, 25(11): 1307–1313.
- Pan Y, Peng T, Xu P, Zeng X, Tian F, Song J, Shang Q, 2019. Transcription factors AhR/ARNT regulate the expression of CYP6CY3 and CYP6CY4 switch conferring nicotine adaptation. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(18): 4521.
- Pan ZY, Mo XN, Meng X, Chen M, 2020. Effects of chlorogenic acid on the growth and development and detoxification-related protein activities in *Hyphantria cunea* (Lepidoptera: Arctiidae) larvae. *Acta Entomologica Sinica*, 63(9): 1081–1090. [潘忠玉, 莫夏娜, 孟香, 陈敏, 2020. 绿原酸对美国白蛾幼虫生长发育和解毒相关蛋白活性的影响. 昆虫学报, 63(9): 1081–1090.]
- Peng T, Pan Y, Gao X, Xi J, Zang L, Yang C, Bi R, Yang S, Xin X, Shang Q, 2016. Cytochrome P450 CYP6DA2 regulated by cap 'n'collar isoform C (CncC) is associated with gossypol tolerance in *Aphis gossypii* Glover. *Insect Molecular Biology*, 25(4): 450–459.
- Pym A, Troczka BJ, Hayward A, Zeng B, Gao CF, Elias J, Slater R, Zimmer CT, Bass C, 2024. The role of the *Bemisia tabaci* and *Trialeurodes vaporariorum* cytochrome-P450 clade CYP6DPx in resistance to nicotine and neonicotinoids. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 198: 105743.
- Shao HY, Meng X, Zhang T, Chen M, 2023. Analysis of cytochrome P450 genes in response to quercetin and function of CYP6ZB2 in *Hyphantria cunea*. *Scientia Agricultura Sinica*, 56(7): 1322–1332. [邵红扬, 孟香, 张涛, 陈敏, 2023. 响应槲皮素诱导的美国白蛾 P450 基因及 CYP6ZB2 功能分析. 中国农业科学, 56(7): 1322–1332.]
- Sun ZX, Shi Q, Li QL, Wang RM, Xu CC, Wang HH, Ran CX, Song Y, Zeng RS, 2019. Identification of a cytochrome P450 CYP6AB60 gene associated with tolerance to multi-plant allelochemicals from a polyphagous caterpillar tobacco cutworm (*Spodoptera litura*). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 154: 60–66.
- Wang RL, Sun YL, Liang XT, Song YY, Su YJ, Zhu KY, 2012. Effects of six plant-derived secondary metabolites on the detoxification enzyme activity of the oriental white moth. *Acta Ecologica Sinica*, 32(16): 5191–5198. [王瑞龙, 孙玉林, 梁笑婷, 宋圆圆, 苏贻娟, 朱克岩, 曾任森, 2012. 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, 32(16): 5191–5198.]
- Wang RL, Li J, Staehelin C, Xin XW, Su YJ, Zeng RS, 2015a. Expression analysis of two P450 monooxygenase genes of the tobacco cutworm moth (*Spodoptera litura*) at different developmental stages and in response to plant allelochemicals. *Journal of Chemical Ecology*, 41(1): 111–119.
- Wang RL, Xia QQ, Baerson SR, Ren Y, Wang J, Su YJ, Zheng SC, Zeng RS, 2015b. A novel cytochrome P450 CYP6AB14 gene in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) and its potential role in plant allelochemical detoxification. *Journal of Insect Physiology*, 75: 54–62.
- Wang BQ, Cheng LH, Fang Y, Li WW, Liu JN, 2022. Effects of plant secondary metabolites on detoxification enzyme activity and related gene expression of *Spodoptera frugiperda*. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 50(8): 11–15. [王柄权, 程凌寒, 方宇, 李维薇, 刘佳妮, 2022. 植物次生代谢物质对草地贪夜蛾解毒

- 酶活性及相关基因表达的影响. *江苏农业科学*, 50(8): 11–15.]
- Wang JT, Li SY, Zuo Z, Xu WX, Hao DJ, 2023. Growth, development and the resistance gene transcriptional expression of *Pagiophloeus tsushimanus* (Coleoptera: Curculionidae) larvae after feeding on linalool and eucalyptol. *Scientia Silvae Sinicae*, 59(5): 109–120. [王璟廷, 李寿银, 左壮, 徐文轩, 郝德君, 2023. 芳樟醇、桉叶油素取食胁迫下香樟齿喙象(鞘翅目: 象甲科)幼虫的生长发育及抗性基因的转录表达. *林业科学*, 59(5): 109–120.]
- War AR, Taggar GK, Hussain B, Taggar MS, Nair RM, Sharma HC, 2020. Plant defense and insect adaptation with reference to secondary metabolites. *Co-Evolution of Secondary Metabolites*, 2020: 795–822.
- Xiong TF, Yu MY, Li M, Christopher AR, Qiu XH, 2025. CYP6B6 mediated adaptation to capsaicinoids in the generalist *Helicoverpa armigera* and specialist *H. assulta*: Transcriptional response and metabolic detoxification. *International Journal of Biological Macromolecules*, 286: 138286.
- Yan H, Dong WB, Gao YL, Hou QF, Zhou YJ, Chen YR, Liu MY, Li F, Wu SY, 2024. The effects of α -atropine on the growth, development, and metabolic detoxification of potato tuber moth. *Acta Botanica Sinica*, 51(6): 1438–1448. [闫寒, 董文博, 高玉林, 侯清芳, 周钰佳, 陈昱儒, 刘明月, 李芬, 吴少英, 2024. α -茄碱对马铃薯块茎蛾生长发育及代谢解毒的影响. *植物保护学报*, 51(6): 1438–1448.]
- Zhang X, Wang Y, Gu M, Wang MY, Zhang ZS, Pan WY, Jiang Z, Zheng HZ, Lucero M, Wang HL, George E, Sterbinsky, Ma Q, Wang GY, Feng ZX, Li J, Dai HJ, Liang YY, 2012. Induction of detoxification enzymes by quercetin in the silkworm. *Journal of Economic Entomology*, 105(3): 1034–1042.
- Zhang YC, Gao SS, Xue S, An SH, Zhang KP, 2021. Disruption of the cytochrome P450 CYP6BQ7 gene reduces tolerance to plant toxicants in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 172: 263–269.
- Zhang YL, Yu RN, Tang J, Du LH, Wang YH, Wang JT, Liu LS, Gao SS, Li B, 2022. Three cytochrome P450 CYP4 family genes regulated by the CncC signaling pathway mediate phytochemical susceptibility in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*. *Pest Management Science*, 78(8): 3508–3518.
- Zhang YX, Zhang TW, Shi L, Yuan Y, Liu CZ, 2023. Effects of exogenous melatonin on the growth and reproduction of *Aphis craccivora*. *Chinese Journal of Ecology*, 42(5): 1150–1154. [张育霞, 张廷伟, 史历, 袁月, 刘长仲, 2023. 外源褪黑素对苜蓿蚜生长发育和繁殖的影响. *生态学杂志*, 42(5): 1150–1154.]