

类黄酮合成通路介导的木薯对木薯绵粉蚧的防御机理

耿越^{1,2,3}, 陈青^{2,3*}, 梁晓^{2,3}, 刘迎^{2,3}, 伍春玲^{2,3}, 陈银华¹

1. 海南大学热带农林学院, 海南海口 570228; 2. 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所/农业农村部热带作物有害生物综合治理重点实验室/海南省热带作物病虫害生物防治工程技术研究中心, 海南海口 571101; 3. 中国热带农业科学院三亚研究院/海南省南繁生物安全与分子育种重点实验室, 海南三亚 572000

摘要: 木薯是世界重要的粮食作物、能源作物和工业原料。木薯绵粉蚧 (*Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero) 是一种世界危险性检疫性害虫, 培育和利用抗虫木薯品种可以有效阻断其定殖为害。挖掘具有抗虫作用的次生代谢物质及其调控基因是开展抗虫育种的重要策略之一。而类黄酮是植物抵御生物与非生物胁迫的特有次生代谢物质, 但类黄酮及其合成通路基因在木薯抗木薯绵粉蚧中的功能尚不清楚。据此, 本研究分析了抗虫木薯品种 (C1115、SC9、缅甸) 和感虫木薯品种 (KU50、SC205、面包) 被木薯绵粉蚧为害不同时间 (0、1、4、8 d) 后, 叶片中类黄酮合成通路相关基因 (*CHS*、*CHI*、*FLS*、*LAR*、*DFR*、*F3H*、*CCoAOMT*、*C4H*、*C3'H*、*ANR*) 表达量以及类黄酮含量的变化情况。结果表明: 木薯绵粉蚧取食后, 叶组织中 *CCoAOMT*、*C3'H*、*ANR*、*C4H* 虽然上调表达, 但与为害前相比并无显著差异, 且抗、感木薯品种间的表达量也无显著差异; 与之相对, *CHS*、*CHI*、*FLS*、*F3H*、*DFR*、*LAR* 基因表达量均比为害前显著提高, 并且在相同的为害时间内, 这 6 个基因在抗虫木薯品种中的表达量也显著高于感虫木薯品种。进一步通过相关性分析发现, *CHS*、*CHI*、*FLS*、*F3H*、*LAR* 基因的表达量与木薯品种的抗虫性呈显著正相关。此外, 总黄酮含量测定结果表明: 木薯绵粉蚧为害 1 d 时总黄酮含量与为害前相比均显著上升, 为害 4 d 后抗虫木薯品种总黄酮含量显著高于感虫木薯品种。相关性分析显示, 总黄酮含量也与木薯品种的抗虫性呈显著正相关。因此推测, 类黄酮含量的上升及其调控基因 *CHS*、*CHI*、*FLS*、*F3H*、*LAR* 在抗虫木薯品种中的显著上调表达与其对木薯绵粉蚧的抗性有关。本研究为深入解析类黄酮合成基因调控木薯对木薯绵粉蚧的抗虫防御反应分子机制, 以及木薯抗虫分子设计育种提供重要的前期基础。

关键词: 抗、感木薯品种; 木薯绵粉蚧; 类黄酮合成途径; 基因表达; 抗虫机理

中图分类号: S435.33 文献标识码: A

Flavonoid Synthesis Pathway-mediate Defense Mechanism of Cassava Against *Phenacoccus manihoti*

GENG Yue^{1,2,3}, CHEN Qing^{2,3*}, LIANG Xiao^{2,3}, LIU Ying^{2,3}, WU Chunling^{2,3}, CHEN Yinhu¹

1. School of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Haikou, Haian 570228, China; 2. Environment and Plant Protection Institute, China Academy of Tropical Agricultural Sciences / Key Laboratory of Integrated Pest Management on Tropical Crops, Ministry of Agriculture and Rural Affairs / Hainan Engineering Research Center for Biological Control of Tropical Crops Diseases and Insect Pests, Haikou, Hainan 571101, China; 3. Sanya Research Academy, Chinese Academy of Tropical Agriculture Science / Hainan Key Laboratory for Biosafety Monitoring and Molecular Breeding in Off-Season Reproduction Regions, Sanya, Hainan 572000, China

Abstract: Cassava is an important food crop, energy crop and industrial raw material. Cassava mealybug (*Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero) is a dangerous quarantine pest in the world, the cultivation and utilization of insect-resistant

收稿日期 2023-09-07; 修回日期 2023-11-13

基金项目 国家木薯产业技术体系虫害防控岗位科学家专项 (No. CARS-11-HNCQ); 农业农村部农业资源调查与保护利用专项 (No. NFZX-2021); 海南省研究生创新科研项目 (No. Qhys2022-80)。

作者简介 耿越 (1998—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 抗虫种质资源挖掘与创新利用。*通信作者 (Corresponding author): 陈青 (CHEN Qing), E-mail: chqingztq@163.com。

cassava cultivars can effectively block its colonization. Mining insect-resistant secondary metabolites and the regulatory genes is one of the important strategies for insect-resistant breeding. Flavonoids are unique secondary metabolites for plants to resist biotic and abiotic stresses, but the function of flavonoids and the synthesis pathway genes in cassava resistance to cassava mealybug is still unclear. Based on this, this study analyzed the expression levels of flavonoid synthesis pathway-related genes (*CHS*, *CHI*, *FLS*, *LAR*, *DFR*, *F3H*, *CCoAOMT*, *C4H*, *C3'H* and *ANR*) and flavonoid content in the leaves of insect-resistant (C1115, SC9, Myanmar) and insect-susceptible (KU50, SC205 and Bread) cassava cultivars after being damaged by cassava mealybug for different time (0, 1, 4, 8 d). Although the expression of *CCoAOMT*, *C3'H*, *ANR* and *C4H* in the leaf was up-regulated after feeding, there was no significant difference compared with that before damage, and there was no significant difference in the expression level between the resistant and susceptible cassava cultivars. In contrast, the expression levels of *CHS*, *CHI*, *FLS*, *F3H*, *DFR* and *LAR* genes were significantly higher than those before damage, and in the same damage time, the expression levels of the six genes in the insect-resistant cassava cultivars were also significantly higher than those in the insect-susceptible cassava cultivars. Further correlation analysis showed that the expression levels of *CHS*, *CHI*, *FLS*, *F3H* and *LAR* genes were significantly positively correlated with the insect resistance of cassava cultivars. In addition, the results of total flavonoid content determination showed that the total flavonoid content increased significantly after one day of damage compared with that before damage, and the total flavonoid content of insect-resistant cassava cultivars was significantly higher than that of the insect-susceptible cassava cultivars after 4 days of damage. Correlation analysis showed that the total flavonoid content was also significantly positively correlated with the insect resistance of cassava cultivars. Therefore, it is speculated that the increase of flavonoid content and the significantly up-regulation of *CHS*, *CHI*, *FLS*, *F3H* and *LAR* in the insect-resistant cassava cultivars may be related to the resistance to cassava mealybug. This study would provide an important preliminary basis for the in-depth analysis of the molecular mechanism of flavonoid synthesis genes regulating the insect-resistant defense response of cassava to mealybug, as well as the molecular design and breeding of cassava insect-resistant.

Keywords: insect-resistant and insect-susceptible cassava cultivars; *Phenacoccus manihoti*; flavonoid biosynthetic pathway; gene expression; resistance mechanism

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.12.010

木薯 (*Manihot esculenta* Crantz) 为大戟科木薯属灌木或亚灌木作物, 在全球一百多个国家包括我国的海南、广西、广东、福建、湖南、云南等省 (区) 大面积种植^[1-2], 是重要的粮食作物、能源作物、工业原料和饲料作物^[3-4], 在保障世界粮食安全和能源安全中具有不可替代的地位, 并作为“先锋作物”在“一带一路”倡议中发挥重要作用。

木薯绵粉蚧 (*Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero) 是半翅目、粉蚧科、绵粉蚧属的一种世界危险性检疫性害虫^[5], 最初在南美洲被发现, 2011 年该虫被我国农业农村部列为高风险性检疫有害生物^[6], 目前已在世界木薯主产区普遍严重发生^[7-8]。该虫主要通过若虫和成虫直接刺吸植株组织汁液为害, 造成顶芽、叶片卷曲和束顶, 节间减少, 发育迟缓, 茎秆和根系变弱, 常导致减产 50% 以上, 严重危害时导致整株死亡和绝收^[9-10]。此外, 该虫还会诱发煤烟病加重为害。目前对于该虫的防治主要以化学防治和生物防治^[11]为主, 但目前登记用于防治该虫的药剂非常少, 而生物防治因木薯产地生态环境多样性低导致天敌种

群数量不稳定, 生物防治效果差。因此, 寻求新的有效绿色防控木薯绵粉蚧的策略和途径成为目前国内外木薯产业发展中亟待解决的重大课题。

作物抗虫性是使植物通过内禀的抗虫机制免于受害、利用内因治虫所特有的手段, 培育和利用抗虫品种是目前国内外公认的最经济、简便、有效的一项带有方向性的虫害绿色防控途径^[12-13], 挖掘具有抗虫作用的次生代谢物质是目前开展抗虫育种的重要策略。黄酮类化合物是植物体内一类特有的次生代谢物质, 在酚类化合物中数量最多, 目前已知的黄酮类化合物已超过 10 000 种^[14]。已报道与植物抗虫相关的多种黄酮类化合物及其调控基因。研究发现无色花青素还原酶 (*LAR*)、花青素还原酶 (*ANR*) 基因的过表达可提高单宁含量, 使木薯对二斑叶螨具有抗性^[15]; 在水稻中添加樱花素作为激发子可以有效提高水稻对稻飞虱的抗性^[16]; 将查尔酮异构酶 (*CHI*) 基因导入抗虫棉中可增强其对病害和棉铃虫的抗性^[17]; 松茸毒蛾和松毛虫在为害马尾松后, 马尾松的类黄酮合成通路基因类黄酮 3-羟化酶 (*F3H*)、肉桂酸 4-羟化

酶 (*C4H*) 和类黄酮-3'5'-羟化酶 (*F3'5'H*) 显著上调表达, 提高了马尾松的抗虫性^[18]。然而, 迄今为止尚无类黄酮调控基因作用于木薯抗木薯绵粉蚧中的相关研究报道。因此, 本研究以抗 (C1115、SC9、缅甸)、感 (KU50、SC205、面包) 木薯品种为参试材料, 系统开展木薯绵粉蚧取食前后抗、感木薯品种类黄酮含量及其合成途径基因表达的差异研究, 以期明确类黄酮合成通路在木薯抗木薯绵粉蚧中的重要作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试木薯品种 选用经抗虫性鉴定且表性稳定的抗虫木薯品种 C1115、SC9、缅甸和感虫木薯品种 KU50、SC205、面包为参试材料^[19-21], 上述品种均由中国热带农业科学院环境与植物保护研究所提供。种植土比例 (土壤: 泥炭土: 珍珠岩=1: 1: 1)。

1.1.2 供试木薯绵粉蚧 木薯绵粉蚧为用感虫木薯品种 KU50 在中国热带农业科学院环境与植物保护研究所室内长期继代饲养的实验种群, 饲养温度设置为(28±2)℃, 相对湿度为 75%±5%。

1.1.3 类黄酮合成途径基因 根据已发表的相关文献以及在 KEGG (<https://www.kegg.jp/kegg/>) 网站上发布的类黄酮合成通路, 选取 10 个研究广泛、挖掘潜力最大的类黄酮合成基因, 用于木薯绵粉蚧取食前后类黄酮合成基因在抗、感虫木薯品种间表达差异及其与木薯对木薯绵粉蚧的抗虫性相关性分析。10 个类黄酮合成通路基因为: 查尔酮合酶 (*CHS*)、*CHI*、*F3H*、黄酮醇合成酶 (*FLS*)、二氢黄酮醇还原酶 (*DFR*)、*LAR*、*ANR*、咖啡酰辅酶 A-O-甲基转移酶 (*CCOAMT*)、*C4H*、香豆酸-3 羟化酶 (*C3'H*)。

1.2 方法

1.2.1 木薯品种对木薯绵粉蚧的抗虫性鉴定 选择前期研究中对二斑叶螨和木瓜秀粉蚧分别表现出抗性的木薯品种 C1115、SC9、缅甸和感性的木薯品种 KU50、SC205、面包^[19-21], 同时通过室内鉴定上述品种对木薯绵粉蚧的抗虫性。根据《木薯种质资源抗虫性鉴定技术规程》(NY/T 2445—2013), 木薯绵粉蚧为害高峰期时, 每个品种调查 12 株木薯, 每株木薯选取受虫害最严重的 3 片叶, 即样本量 $N=36$, 根据叶片枯黄和卷曲程度将叶片受木薯绵粉蚧为害后分为 0、1、2、3、

4 级, 根据以下公式计算虫害指数 (I):

$$I = \frac{\sum S \times N_s}{N \times 5} \times 100\%$$

式中, I 为虫害指数, S 为叶片受害级别, N_s 为该受害级别叶片数, N 为调查叶片总数。据此, 可将田间木薯的抗虫性水平分为免疫 ($I=0$)、高抗 ($0 < I \leq 12.5\%$)、抗 ($12.5\% < I \leq 37.5\%$)、中抗 ($37.5\% < I \leq 62.5\%$)、感 ($62.5\% < I \leq 87.5\%$)、高感 ($I > 87.5\%$) 共 6 个级别。

1.2.2 木薯绵粉蚧接种与取样 选取生长周期约 50 d、长势相近的健康木薯, 用细毛笔轻轻蘸取大小相近长期继代饲养生长周期 15 d、二龄左右的雌粉蚧接种于木薯中部叶片的背面, 以 30 头/叶接种于木薯中部 3 片叶上, 并均匀涂抹羊毛脂于叶柄基部以防止粉蚧迁移。随后在木薯绵粉蚧为害 0、1、4、8 d 时对叶片取样, 轻扫下叶片上的粉蚧后迅速将叶片用液氮处理, 随后于-80℃下冷冻保存, 备用。每株木薯取样 1 次, 每个虫害时间点设 3 个生物学重复。

1.2.3 RNA 提取及合成 cDNA 第一条链 使用多糖多酚植物总 RNA 提取试剂盒 (TIANGEN, 美国) 对木薯叶片进行 RNA 提取, 并通过 1% 琼脂糖凝胶电泳检测其完整性和纯度, 并用超微量紫外分光光度计 (Thermo) 检测其浓度。确定 RNA 可使用后, 进一步通过 ThermoScript 1st Strand cDNA Synthesis Kit (Vazyme, 中国) 进行基因组 DNA 的清除以及逆转录反应, 进行 cDNA 第一条链的合成, 其中 RNA 样品加入 1.0 μg, 选择 Oligo (dT) 作为逆转录引物。

1.2.4 实时荧光定量 PCR 以木薯的 *Meactin* 基因作为内参基因, 相关基因的引物序列信息见表 1。通过 2×Q3 SYBR qPCR Master Mix 试剂盒 (TOLOBIO, 中国) 说明书配置 qPCR 反应体系, qPCR 反应条件为: 首先在 95℃ 下进行 60 s 预变性, 循环反应为: 95℃ 变性 15 s, 58℃ 下退火 30 s, 72℃ 延伸 20 s, 使用 LightCycler®96 仪器 (Roche, 瑞士) 默认程序采集扩增曲线和溶解曲线。将未受木薯绵粉蚧取食的类黄酮合成通路基因的表达量统一设置为 1.0, 粉蚧为害后的类黄酮合成通路基因的表达量变化情况以为害前的相对倍数表示, 以 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法^[22] 计算分析, 每个处理设 3 个生物学重复, 并进行 3 个技术性重复。

1.2.5 木薯叶片总黄酮含量的测定 在碱性亚硝酸盐溶液中的类黄酮和铝离子在 510 nm 处可形

表 1 木薯类黄酮合成途径候选基因引物
Tab. 1 Candidate gene primers for flavonoids synthesis pathway

基因 Gene	基因登录号 Gene ID	引物序列 (5'-3') Primer sequence (5'-3')	退火温度 Tm/°C	产物大小 Product size/bp
<i>CHS</i>	MANES_11G075100	F: CACCGCCACTCCCTCTAACT	59.1	244
		R: CTTCGGGACCTCCACCACTA	59.7	
<i>CHI</i>	MANES_07G107200	F: CTGAAGTGGTTATGGTGGAT	51.9	227
		R: AAGAGCGTCAAAGAAGTCAT	51.5	
<i>F3H</i>	MANES_02G104700	F: AACCATCACCTCTTGCTCC	58.7	284
		R: GTCCTCCATCACTGGCTTT	59.1	
<i>FLS</i>	MANES_02G160700	F: TTCCAAACGATGTCCAGGTC	59.7	171
		R: TTCGCATTCTTCTTTGTTACC	61.3	
<i>DFR</i>	MANES_18G022300	F: CAGGTGCTTCTGGGTCA	54.1	150
		R: ACAGCGTCAAGTGGGTCT	52.6	
<i>LAR</i>	MANES_06G072400	F: AGCAGTCCAGCCTTTGTC	52.6	285
		R: CTCCTCCATCATTCTTTTT	53.5	
<i>CCoAOMT</i>	MANES_10G078800	F: AATGGTTCTGTGGTGGCA	54.2	155
		R: CGACGGCAAAGATGATT	53.7	
<i>ANR</i>	MANES_16G016400	F: AAAGACAGCTTGCCTGAT	50.6	139
		R: GAGTGCTTGGAGGTGAGA	49.9	
<i>C3'H</i>	MANES_08G063400	F: TATGGGCTGACTATGGACC	52.7	118
		R: ATGGCAGTGACCTCATCTTCT	56.0	
<i>C4H</i>	MANES_18G126900	F: CTCGCCAACAACTCTGCTC	58.7	131
		R: CTCCTCCTTCCAACCTCA	52.2	
<i>Actin</i>	MANES_13G084300v8	F: GAAGTCTGTTCACCATCT	54.4	154
		R: AACCACCGCTAAGCACTATGT	56.4	

成有特征吸收峰的红色络合物, 据此采用微量法测定木薯叶片类黄酮含量, 参照植物类黄酮试剂盒 (Mlbio, 中国上海) 说明书 (<https://www.mlbio.cn/>) 进行测定。

1.3 数据处理

采用 Gradphad Prism 9 软件进行数据汇总和整理, 采用完全随机设计 (completely randomized design) 进行试验设计, 并采用 SPSS 26.0 软件对木薯绵粉蚧取食不同木薯品种后基因表达量变化倍数进行方差分析和多重比较。首先对原始数据的正态性和方差齐性进行检验, 通过峰度和偏度的计算确认数据是否服从正态分布; 其次若方差齐性则采用 Duncan's 新复极差法方法进行多重比较, 若方差不齐时则对数据进行平方根转换, 并采用 Dunnett's T3 方法进行数据间的多

重比较 ($P=0.05$)。通过 Spearman 相关性分析计算基因表达量或类黄酮含量和虫害指数之间相关系数 (ρ)。

2 结果与分析

2.1 木薯品种对木薯绵粉蚧的抗虫性鉴定

由表 2 可知抗虫木薯品种 C1115、SC9、缅甸和感虫木薯品种 KU50、SC205、面包的虫害指数 (I) 分别为 7.90%、9.60%、11.50%、93.25%、91.80%、95.20%, 因此, C1115、SC9、缅甸对木薯绵粉蚧的抗虫水平均为高抗, 而 KU50、SC205、面包对木薯面粉蚧的抗虫水平均为高感。

2.2 木薯绵粉蚧为害抗、感木薯品种前后叶片 *CHS* 基因的表达差异分析

在木薯绵粉蚧为害后, 木薯类黄酮合成通路

表 2 不同木薯种质对木薯绵粉蚧为害的虫害指数

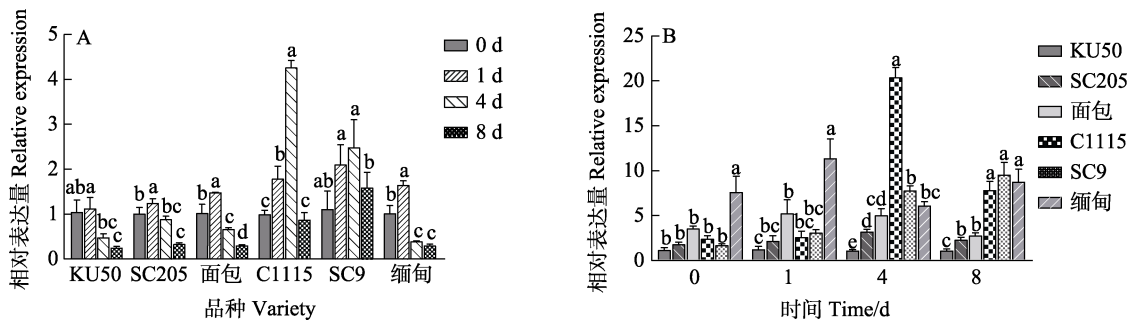
Tab. 2 Pest index of different cassava germplasms

指标 Index	虫害等级对应叶片数 Number of leaves corresponding to pest level					
	C1115	SC9	缅甸 Myanmar	KU50	SC205	面包 Bread
虫害等级	0	28	25	26	0	0
	1	4	8	7	1	0
	2	2	3	2	1	1
	3	1	0	2	5	5
	4	0	0	0	30	30
调查叶片总数	35	36	37	37	36	36
虫害指数/%	7.90	9.60	11.50	93.25	91.80	95.20
抗虫水平	高抗	高抗	高抗	高感	高感	高感

CHS 基因的表达量在抗、感木薯品种中均有显著变化，呈先上升后下降的趋势，其中抗虫木薯品种中基因表达量的变化更为显著。在木薯绵粉蚧为害 1 d 时，C1115、SC9、缅甸叶片中的 *CHS* 基因表达量分别上升到为害前的 1.81 倍、2.12 倍、1.66 倍；粉蚧为害 4 d 时，C1115、SC9 叶片中的 *CHS* 基因表达量进一步上升到为害前的 4.29 倍、2.51 倍，而感虫木薯品种 KU50、面包、SC205 中无显著变化；粉蚧为害 8 d 时，6 个品种的 *CHS* 基因表达量均显著降低（图 1A）。进一步横向对比同一时间不同木薯品种的 *CHS* 基因表达量，发现缅甸在粉蚧为害 0、1 d 时的表达量远远大于其他木薯品种，抗虫木薯品种在粉蚧为害 4 d 后显著高于感虫品种，为害 8 d 时抗感差异最显著（图 1B）。相关性分析表明，粉蚧为害 4 d 后 *CHS* 基因的表达水平和木薯品种的抗虫性呈显著正相关（ $\rho=0.8285, P=0.0415$ ）。

2.3 木薯绵粉蚧为害抗、感木薯品种前后叶片 *CHI* 基因的表达差异分析

在木薯绵粉蚧为害后，*CHI* 基因的表达量在抗虫木薯品种 C1115、SC9、缅甸以及感虫木薯品种面包叶片中变化显著，均呈先增后降的趋势，而在 SC205、KU50 中基因表达量的变化不显著或稍有所下降。其中在木薯绵粉蚧为害 1 d 后，*CHI* 基因表达量在面包、SC9、缅甸中分别上升到为害前的 1.74 倍、1.98 倍、1.61 倍；粉蚧为害 4 d 后，抗虫品种 C1115、缅甸分别上升到为害前的 2.22 倍、4.41 倍；在粉蚧为害 8 d 时，*CHI* 基因表达量在各个品种中均下降至较低水平（图 2A）。对比同一时间不同木薯品种 *CHI* 基因的表达量，发现抗虫木薯品种在粉蚧为害 4 d 后开始显著高于感虫木薯品种（图 2B）。相关性分析表明，粉蚧为害 4 d 时 *CHI* 基因表达量与木薯品种的抗虫性呈显著正相关（ $\rho=0.9428, P=0.0048$ ）。

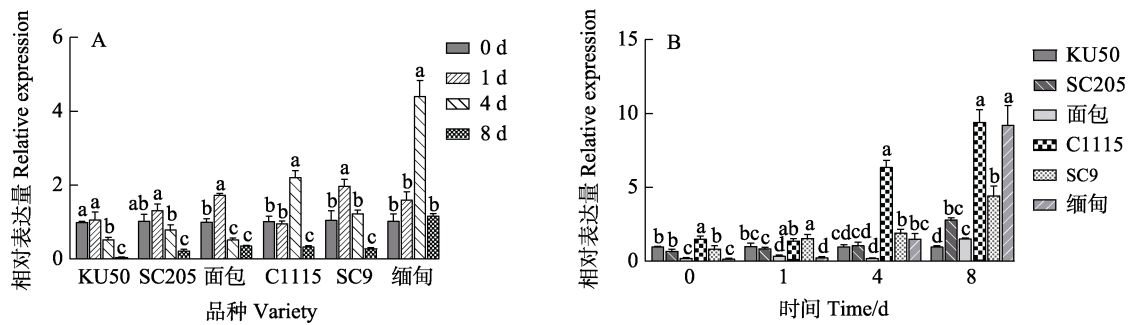


A: 木薯绵粉蚧为害前后同一品种不同时间的基因表达量；B: 木薯绵粉蚧为害前后同一时间不同品种的基因表达量。不同小写字母表示差异显著（ $P<0.05$ ）。

A: Gene expression of the same variety at different time before and after *P. manihoti* infestation; B: Gene expression among different varieties at the same time before and after *P. manihoti* infestation. Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$).

图 1 木薯绵粉蚧为害前后不同时间、不同品种的 *CHS* 基因表达量的变化

Fig. 1 Changes of *CHS* gene expressions at different time and varieties before and after *P. manihoti* infestation



A: 木薯绵粉蚧为害前后同一品种不同时间的基因表达量；B: 木薯绵粉蚧为害前后同一时间不同品种的基因表达量。不同小写字母表示差异显著（ $P<0.05$ ）。

A: Gene expression of the same variety at different time before and after *P. manihoti* infestation; B: Gene expression among different varieties at the same time before and after *P. manihoti* infestation. Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$).

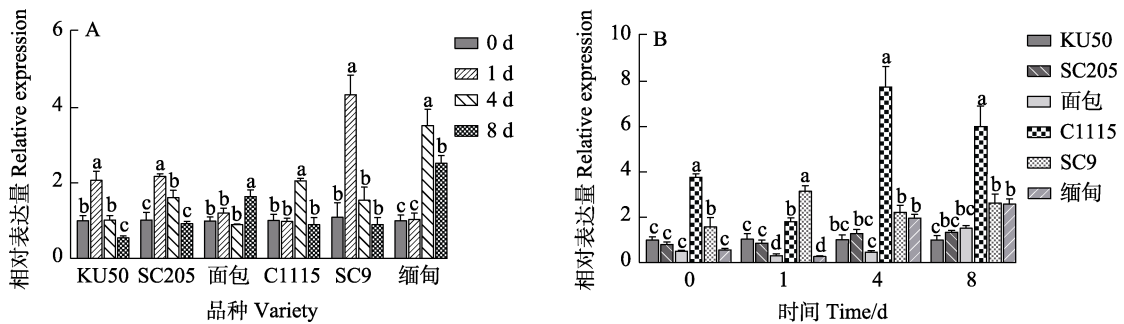
图 2 木薯绵粉蚧为害前后不同时间、不同品种的 *CHI* 基因表达量的变化

Fig. 2 Changes of *CHI* gene expressions at different time and varieties before and after *P. manihoti* infestation

2.4 木薯绵粉蚧为害抗、感木薯品种前后叶片 *FLS* 基因的表达差异分析

木薯绵粉蚧为害后, *FLS* 基因的表达量在抗虫木薯品种 C1115、SC9、缅甸以及感虫品种 KU50、SC205 中均呈先升后降的趋势, 其中抗虫品种的表表达量变化较大。在粉蚧为害 1 d 后, KU50、SC205、SC9 叶片中的 *FLS* 基因表达量分别上升到为害前的 2.09 倍、2.19 倍、4.36 倍, 随后在为害 4 d 时基因表达量下降。粉蚧为害 4 d

后, C1115、缅甸分别上升到为害前的 2.07 倍、3.54 倍; 面包在第 8 天上升至为害前的 1.66 倍(图 3A)。对比同一时间不同木薯品种的 *FLS* 基因表达量, 发现在木薯绵粉蚧为害 4 d 后抗虫木薯品种的 *FLS* 基因表达量显著高于感虫木薯品种, 其中抗虫品种 C1115 的表达量最高(图 3B)。相关性分析表明, 粉蚧为害 4 d 后 *FLS* 基因的表达量与木薯品种的抗虫性呈显著正相关 ($\rho=0.9428, P=0.0048$)。



A: 木薯绵粉蚧为害前后同一品种不同时间的基因表达量; B: 木薯绵粉蚧为害前后同一时间不同品种的基因表达量。不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

A: Gene expression of the same variety at different time before and after *P. manihoti* infestation; B: Gene expression among different varieties at the same time before and after *P. manihoti* infestation. Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$).

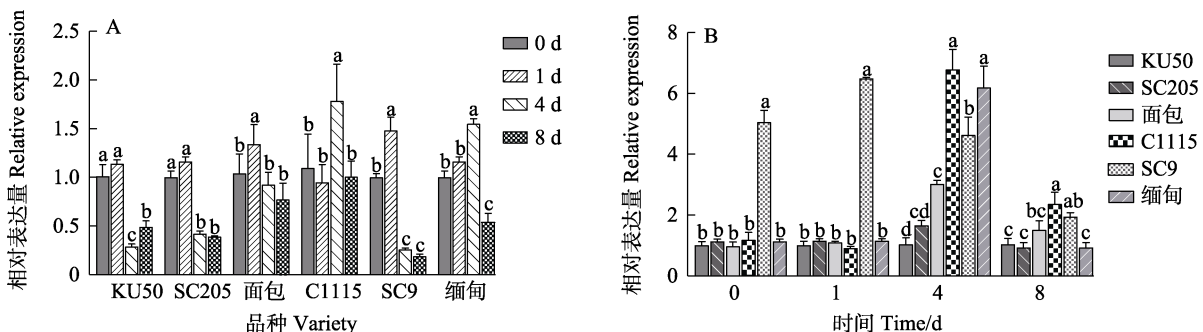
图 3 木薯绵粉蚧为害前后不同时间、不同品种的 *FLS* 基因表达量的变化

Fig. 3 Changes of *FLS* gene expressions at different time and varieties before and after *P. manihoti* infestation

2.5 木薯绵粉蚧为害抗、感木薯品种前后叶片 *LAR* 基因的表达差异分析

在木薯绵粉蚧为害后, 抗、感木薯品种叶片中 *LAR* 基因的表达量变化显著, 表现出先升后降的趋势, 且抗虫木薯品种升高更为显著。其中在粉蚧为害 1 d 时, SC9 叶片中的 *LAR* 基因表达量上升到为害前的 1.48 倍, 在面包中上升到 1.34 倍, 而 KU50、SC205 无显著变化; 粉蚧为害 4 d

后, C1115、缅甸上升到为害前的 1.79 倍、1.55 倍(图 4A)。对比同一时间不同木薯品种的 *LAR* 基因表达量后发现, 粉蚧为害 4 d 时抗虫木薯品种显著高于感虫木薯品种, 且抗虫木薯品种 SC9 在粉蚧为害 0 d 和 1 d 时也表现出高表达量(图 4B)。相关性分析表明, 粉蚧为害 4 d 后 *LAR* 基因的表达量与木薯品种的抗虫性呈显著正相关 ($\rho=0.8285, P=0.0415$)。



A: 木薯绵粉蚧为害前后同一品种不同时间的基因表达量; B: 木薯绵粉蚧为害前后同一时间不同品种的基因表达量。不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

A: Gene expression of the same variety at different time before and after *P. manihoti* infestation; B: Gene expression among different varieties at the same time before and after *P. manihoti* infestation. Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$).

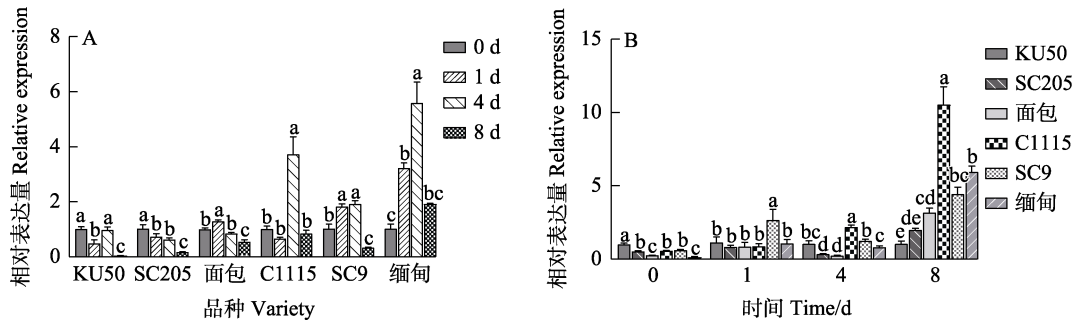
图 4 木薯绵粉蚧为害前后不同时间、不同品种的 *LAR* 基因表达量的变化

Fig. 4 Changes of *LAR* gene expressions at different time and varieties before and after *P. manihoti* infestation

2.6 木薯绵粉蚧为害抗、感木薯品种前后叶片 *DFR* 基因的表达差异分析

在木薯绵粉蚧为害后，除 KU50、SC205 叶片中 *DFR* 基因的表达量未升高外，C1115、SC9、面包均呈先升后降的趋势，且抗虫木薯品种比感虫品种升高更为显著。其中 SC9、面包在木薯绵粉蚧为害 1 d 后 *DFR* 基因的表达量上升到为害前

的 1.83 倍、1.29 倍，SC9、C1115 在粉蚧为害 4 d 后上升到为害前的 1.92 倍、3.73 倍（图 5A）。进一步对比同一时间不同木薯品种 *DFR* 基因的表达量后发现，在粉蚧为害 8 d 后，抗虫木薯品种显著大于感虫木薯品种（图 5B）。相关性分析表明，粉蚧为害 8 d 时 *DFR* 基因的表达量与木薯品种的抗虫性呈不显著正相关（ $\rho=0.7142, P=0.1107$ ）。



A: 木薯绵粉蚧为害前后同一品种不同时间的基因表达量；B: 木薯绵粉蚧为害前后同一时间不同品种的基因表达量。不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

A: Gene expression of the same variety at different time before and after *P. manihoti* infestation; B: Gene expression among different varieties at the same time before and after *P. manihoti* infestation. Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$).

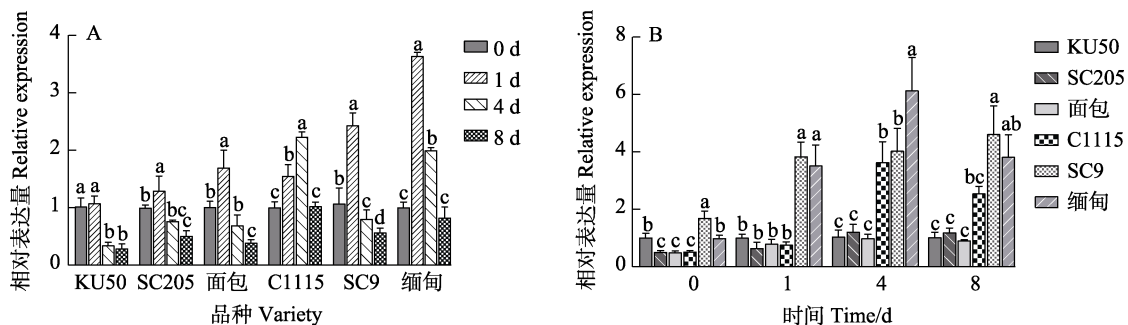
图 5 木薯绵粉蚧为害前后不同时间、不同品种的 *DFR* 基因表达量的变化

Fig. 5 Changes of *DFR* gene expressions at different time and varieties before and after *P. manihoti* infestation

2.7 木薯绵粉蚧为害抗、感木薯品种前后叶片 *F3H* 基因的表达差异分析

木薯绵粉蚧为害后，*F3H* 基因在感虫木薯品种 KU50 叶片中的表达量下降，在 SC205、面包、C1115、SC9、缅甸中显著上升后下降。粉蚧为害 1 d 后，抗虫木薯品种 C1115、SC9、缅甸叶片中的 *F3H* 基因表达量分别上升到为害前的 1.55 倍、2.44 倍、3.64 倍，感虫品种 SC205、面包上升到为害前的 1.30 倍、1.70 倍。粉蚧为害 4 d 后，C1115

叶片的 *F3H* 基因表达量进一步上升到为害前的 2.24 倍，而其他木薯品种中呈下降趋势。粉蚧为害 8 d 时，各木薯品种的 *F3H* 基因表达量进一步降低（图 6A）。进一步对比相同时间不同木薯品种叶片中 *F3H* 基因的表达量后发现，抗虫木薯品种在粉蚧为害 4 d 后显著高于感虫品种（图 6B）。相关性分析表明，粉蚧为害 4 d 后 *F3H* 基因的表达量与木薯品种的抗虫性呈显著正相关（ $\rho=0.8285, P=0.0415$ ）。



A: 木薯绵粉蚧为害前后同一品种不同时间的基因表达量；B: 木薯绵粉蚧为害前后同一时间不同品种的基因表达量。不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

A: Gene expression of the same variety at different time before and after *P. manihoti* infestation; B: Gene expression among different varieties at the same time before and after *P. manihoti* infestation. Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$).

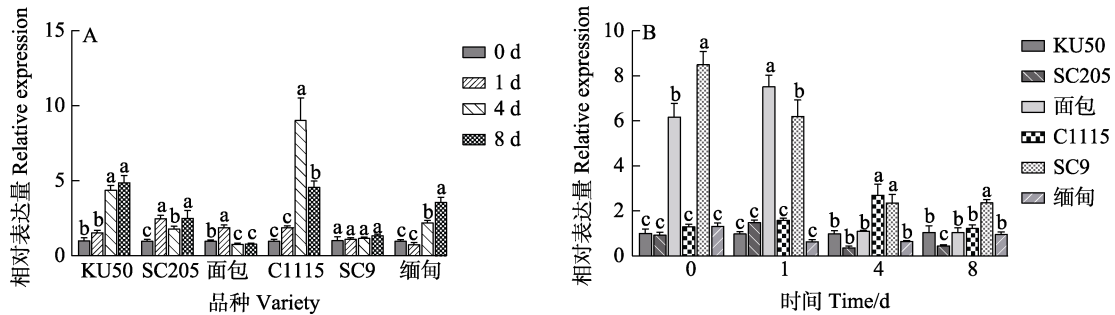
图 6 木薯绵粉蚧为害前后不同时间、不同品种的 *F3H* 基因表达量的变化

Fig. 6 Changes of *F3H* gene expressions at different time and varieties before and after *P. manihoti* infestation

2.8 木薯绵粉蚧为害抗、感木薯品种前后叶片 *CCoAOMT* 基因的表达差异分析

木薯绵粉蚧为害后, KU50、SC205、缅甸叶片中的 *CCoAOMT* 基因表达量逐渐升高, 而 SC9 无显著变化, 其他品种均呈先升后降的趋势。粉蚧为害 1 d 后, 木薯品种 SC205、面包、C1115 叶片中的 *CCoAOMT* 基因表达量上升至为害前的 2.51 倍、1.91 倍、1.92 倍; 粉蚧为害 4 d 后, 感

虫品种 KU50 上升至为害前的 4.40 倍, 抗虫品种 C1115、缅甸分别上升至为害前的 9.06 倍、2.23 倍; 粉蚧为害 8 d 后缅甸中的表达量上升至为害前的 3.59 倍 (图 7A)。进一步对比相同时间不同木薯品种叶片中 *CCoAOMT* 基因的表达量后发现, 在粉蚧为害前与为害 1 d 时, SC9 与面包有较高的表达量, 总体上抗虫品种中的 *CCoAOMT* 基因表达量并不一定高于感虫木薯品种 (图 7B)。



A: 木薯绵粉蚧为害前后同一品种不同时间的基因表达量; B: 木薯绵粉蚧为害前后同一时间不同品种的基因表达量。不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

A: Gene expression of the same variety at different time before and after *P. manihoti* infestation; B: Gene expression among different varieties at the same time before and after *P. manihoti* infestation. Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图 7 木薯绵粉蚧为害前后不同时间、不同品种的 *CCoAOMT* 基因表达量的变化

Fig. 7 Changes of *CCoAOMT* gene expressions at different time and varieties before and after *P. manihoti* infestation

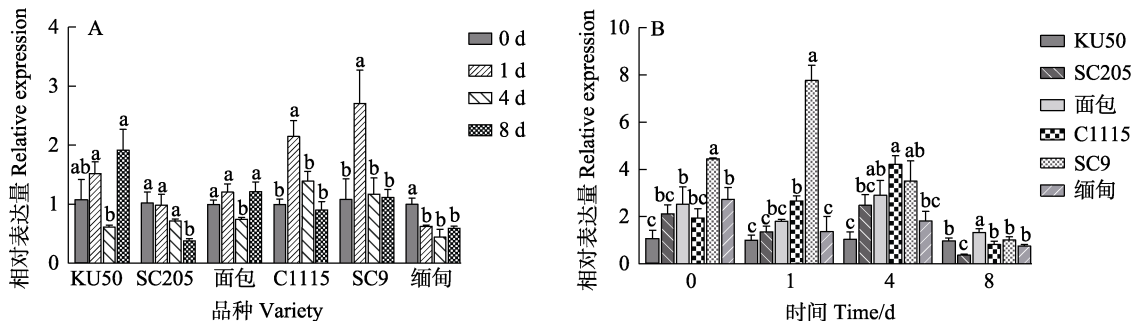
2.9 木薯绵粉蚧为害抗、感木薯品种前后叶片 *C4H* 基因的表达差异分析

木薯绵粉蚧为害后, *C4H* 基因的表达量在抗虫木薯品种 C1115、SC9 叶片中呈先升后降的趋势, 在感虫木薯品种 KU50 中表现为先降后升的趋势, 其他木薯品种中无显著变化或稍有下降。其中粉蚧为害 1 d 后, 抗虫品种 C1115、SC9 叶片中 *C4H* 基因的表达量上升到为害前的 2.16 倍、2.72 倍; 为害 4 d 后, 所有木薯品种中的表达量

均呈下降趋势或无显著变化; 为害 8 d 后, KU50 上升至为害前的 1.93 倍 (图 8A)。对比相同时间不同木薯品种叶片中 *C4H* 基因的表达量后发现, SC9 中的表达量在粉蚧为害前以及为害 4 d 时远大于其他品种, 但总体抗、感木薯品种无显著差异, 抗虫木薯品种并不一定大于感虫品种 (图 8B)。

2.10 木薯绵粉蚧为害抗、感木薯品种前后叶片 *C3'H* 基因的表达差异分析

木薯绵粉蚧为害后, KU50、SC205 叶片中的



A: 木薯绵粉蚧为害前后同一品种不同时间的基因表达量; B: 木薯绵粉蚧为害前后同一时间不同品种的基因表达量。不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

A: Gene expression of the same variety at different time before and after *P. manihoti* infestation; B: Gene expression among different varieties at the same time before and after *P. manihoti* infestation. Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图 8 木薯绵粉蚧为害前后不同时间、不同品种的 *C4H* 基因表达量的变化

Fig. 8 Changes of *C4H* gene expressions at different time and varieties before and after *P. manihoti* infestation

C3H 基因表达量呈下降趋势，C1115、SC9、缅甸、面包中均呈先升后降的趋势。在粉蚧为害 1 d 后，*C3H* 基因在抗虫品种 C1115、SC9、缅甸中分别上升到为害前的 1.69 倍、2.43 倍、1.88 倍，在感虫木薯品种面包中上升至 1.68 倍，而 KU50、SC205 中无显著变化。粉蚧为害 4 d 时，*C3H* 基因在抗虫品种 C1115、SC9 中分别下降到为害前的 27.5%、44.9%，在感虫品种 KU50、SC205 中下降到为害前的 43%、26.7% (图 9A)。对比相同时间不同木薯品种叶片中 *C3H* 基因的表达量后发现，在粉蚧为害前，抗虫木薯品种叶片中的 *C3H* 基因表达量大于感虫木薯品种，粉蚧为害 1 d 时 C1115、SC9 的表达量远远大于其他品种，而在粉蚧为害 4 d 和 8 d 时，抗、感木薯品种之间的表达差异不大或无显著差异 (图 9B)。

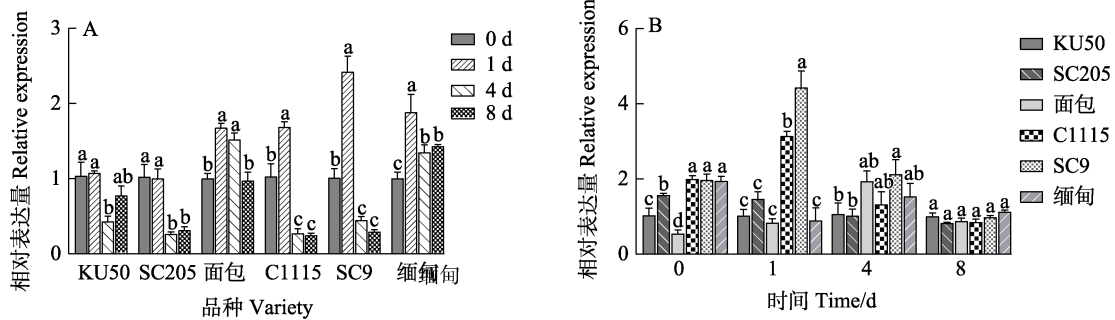
2.11 木薯绵粉蚧为害抗、感木薯品种前后叶片 ANR 基因的表达差异分析

木薯绵粉蚧为害后，抗虫木薯品种 SC9 叶片

中的 *ANR* 基因表达量呈先升后降再升的趋势，缅甸中的表达量随粉蚧为害时间的延长逐渐上升，C1115 中无显著变化；感虫木薯品种 KU50、SC205、面包中均无显著变化或稍有下降。其中 SC9 叶片中的 *ANR* 基因表达量在粉蚧为害 1 d 时上升到为害前的 1.87 倍，4 d 时下降到为害前的水平，8 d 后升高到为害前的 2.12 倍；缅甸在为害 1 d 时上升至为害前的 1.53 倍，为害 8 d 后上升至为害前的 1.86 倍 (图 10A)。横向对比相同时间不同木薯品种叶片中 *ANR* 基因的表达量后发现，抗虫木薯品种 SC9 在粉蚧为害 1、8 d 时的表达量高于其他品种，而其他品种叶片中的表达量在各个时间均无显著差异 (图 10B)。

2.12 木薯绵粉蚧为害抗、感木薯品种前后叶片总黄酮含量的差异分析

与木薯绵粉蚧为害前相比，为害后抗、感木薯品种叶片的总黄酮含量变化显著，为害 1 d 后，抗、感木薯品种总黄酮含量均显著上升；而在为

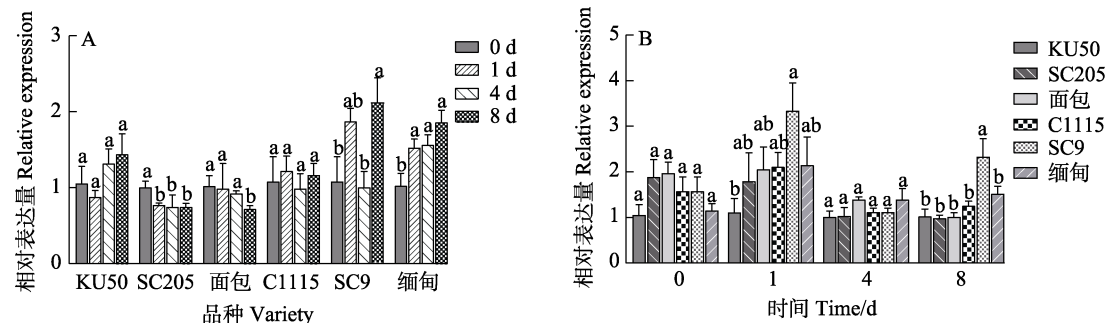


A: 木薯绵粉蚧为害前后同一品种不同时间的基因表达量；B: 木薯绵粉蚧为害前后同一时间不同品种的基因表达量。不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

A: Gene expression of the same variety at different time before and after *P. manihoti* infestation; B: Gene expression among different varieties at the same time before and after *P. manihoti* infestation. Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图 9 木薯绵粉蚧为害前后不同时间、不同品种的 *C3H* 基因表达量的变化

Fig. 9 Changes of *C3H* gene expressions at different time and varieties before and after *P. manihoti* infestation



A: 木薯绵粉蚧为害前后同一品种不同时间的基因表达量；B: 木薯绵粉蚧为害前后同一时间不同品种的基因表达量。不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

A: Gene expression of the same variety at different time before and after *P. manihoti* infestation; B: Gene expression among different varieties at the same time before and after *P. manihoti* infestation. Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图 10 木薯绵粉蚧为害前后不同时间、不同品种的 *ANR* 基因表达量的变化

Fig. 10 Changes of *ANR* gene expressions at different time and varieties before and after *P. manihoti* infestation

害 4 d 后, 抗虫木薯品种 C1115、SC9、缅甸的总黄酮含量仍然维持在较高水平, 而感虫品种 KU50、面包、SC205 中则呈下降趋势; 粉蚧为害 8 d 后, 6 个品种的总黄酮含量无显著变化或稍有

下降, 但抗虫木薯品种中的含量显著高于感虫品种 (表 3)。相关性分析显示, 粉蚧为害 4 d 时, 总黄酮含量与木薯品种的抗虫性呈显著正相关 ($\rho=0.9428, P=0.0048$)。

表 3 木薯绵粉蚧为害前后抗、感木薯品种叶片中的总黄酮含量

Tab. 3 Total flavonoid content in leaves of insect-resistant or insect-susceptible cassava varieties before and after *P. manihoti* infestation

时间 Time/d	总黄酮含量 Total flavonoid content/(mg·g ⁻¹)					
	C1115	SC9	缅甸 Myanmar	KU50	SC205	面包 Bread
0	20.42±1.03 ^{aC}	13.78±0.40 ^{bB}	21.43±0.67 ^{aC}	21.96±1.48 ^{aB}	16.45±0.53 ^{bB}	22.27±1.11 ^{aB}
1	31.39±0.78 ^{aB}	24.82±0.60 ^{aA}	26.95±1.13 ^{bcB}	26.61±0.65 ^{bcA}	26.74±0.54 ^{bcA}	27.84±1.13 ^{bA}
4	38.79±0.65 ^{aA}	25.92±0.59 ^{aA}	29.57±0.99 ^{bAB}	19.60±1.11 ^{dB}	15.28±0.92 ^{eB}	12.90±0.80 ^{cC}
8	32.43±0.81 ^{aB}	26.71±0.71 ^{bA}	31.55±1.00 ^{aA}	9.52±0.33 ^{dC}	16.10±0.50 ^{eB}	8.30±0.063 ^{dD}

注: 同列不同大写字母表示相同品种不同时间差异显著 ($P<0.05$); 同行不同小写字母表示相同时间不同品种差异显著 ($P<0.05$)。

Note: Different capital letters in the same column indicate significant difference in the same variety at different time ($P<0.05$); Different lowercase letters in the same row indicate significant difference among different varieties at the same time ($P<0.05$).

3 讨论

类黄酮通路合成基因在植物应对生物和非生物胁迫过程中发挥重要作用。研究发现, 类黄酮通路糖苷转移酶基因 (*UGT79B2/B3*) 的过量表达可以显著增强拟南芥对低温、干旱和盐胁迫的耐受性^[23]; 大豆中突变黄烷酮-3-羟化酶 (*F3H*) 和黄酮合酶 (*FNS*) 基因, 防止其与异黄酮合酶 (*IFS*) 基因竞争底物, 从而提高异黄酮的含量以及对大豆花叶病毒 (*SMV*) 的抗性^[24]; 异黄酮合成酶基因的表达量在大豆受高浓度镉处理时显著提高, 表明其与耐受镉胁迫密切相关^[25], MURATA 等^[26] 研究发现, 柚皮素 7-O-甲基转移酶 (*NOMT*) 基因在抗真菌品种日本晴和敏感品种籼稻中的表达量存在显著差异, 从而导致抗真菌毒素物质累积及抗菌水平的显著差异。有研究发现, 在大豆胞囊线虫的胁迫下, 抗病品种灰皮支黑豆和感病品种 Williams 82 的 *CHS* 基因表达量存在显著差异, 抗病品种显著上调表达, 初步认为 *CHS* 基因在抗大豆胞囊线虫的抗性机制中发挥重要作用^[27]。本研究表明, 木薯绵粉蚧为害 4 d 后, 抗虫木薯品种类黄酮通路合成基因 (*CHS*、*CHI*、*FLS*、*DFR*、*LAR*、*F3H*) 的表达量显著高于感虫木薯品种, 其中 *CHS*、*CHI*、*FLS*、*F3H*、*LAR* 与品种抗虫性呈显著正相关, 可以推测上述类黄酮通路合成基因可能在木薯抗木薯绵粉蚧中发挥作用, 这与上述研究结果具有相似性。研究发现类黄酮合成通路基因的表达水平会影响类黄酮含量累积进而影响植物的抗虫性。如 *LAR* 和 *ANR* 是调控黄酮醇与

花青素合成的关键基因^[28], 过表达 *LAR*、*ANR* 基因提高了原花青素类物质缩合单宁的含量, 从而提高了木薯对二斑叶螨的抗性^[15]。类黄酮通路基因的表达还存在级联效应, 如 JAN 等^[29]通过干预 *F3H* 基因可以影响下游基因 *FLS*、*DFR* 等的表达, 进而影响花青素、山奈酚、槲皮素等多种类黄酮物质含量, 并改变了水稻的抗虫性。此外, 对转录因子的表达进行调控, 同样可以影响合成通路上基因的表达及类黄酮水平。如在拟南芥中过表达 *MYB75* 转录因子, 将同时上调 *CHS*、*DFR*、*FLS* 等基因的表达, 提高花青素和黄酮醇的水平, 最终提高了植物对欧洲粉蝶幼虫的抗性^[30]。研究表明, 植物类黄酮含量与其抗虫性密切相关。在番茄防御烟粉虱的研究中发现, 类黄酮高含量品系比低含量品系更能降低烟粉虱对其韧皮部的摄食效率和番茄黄叶卷曲病毒 (*TYLCV*) 的传播^[31], 此外, 黄酮类化合物还对害虫具有体外活性, 如异黄酮类物质高丽槐素、牛蒡素等在浓度为 100 mmol/L 时可以有效阻止棉铃虫幼虫对鹰嘴豆的取食, 而加入绿原酸又可进一步增强其拒食活性^[32]。本研究发现, 与木薯绵粉蚧为害前相比, 抗虫木薯品种中类黄酮含量以及类黄酮合成通路基因 *CHS*、*CHI*、*FLS*、*LAR*、*DFR* 和 *F3H* 的表达量均显著升高, 并显著高于感虫木薯品种的含量和表达水平, 推测抗虫木薯品种被粉蚧为害后, 诱导了上述黄酮合成基因的上调表达, 从而使具有抗虫功能的黄酮类物质含量相较于感虫品种显著提高, 进而增强木薯抗虫水平。

抗虫木薯品种受木薯绵粉蚧为害后, 叶片中总黄酮含量显著提高, 类黄酮合成通路基因 *CHS*、*CHI*、*FLS*、*LAR*、*DFR*、*F3H* 显著上调表达, 其中 *CHS*、*CHI*、*FLS*、*F3H*、*LAR* 基因的表达量与木薯品种抗虫性呈显著正相关, 表明上述 5 个基因可能参与类黄酮合成途径介导的木薯抗木薯绵粉蚧的分子机制。本研究分析了木薯绵粉蚧为害后抗、感木薯品种叶片中类黄酮合成通路基因表达量以及总黄酮含量的差异, 后续研究需开展相应合成酶活性的测定, 明确基因-蛋白-代谢物的变化趋势是否具有-致性, 并进一步通过体外抗虫活性试验明确具体发挥抗虫作用的类黄酮物质, 从而进一步揭示特定的类黄酮合成基因介导的木薯抗虫功能。

参考文献

- [1] ROY S, MARIE A. Food and Agriculture Organization of the United Nations[J]. Australian Veterinary Journal, 2006, 35(3): 105-110.
- [2] 欧文军, 罗秀芹, 安飞飞, 李开绵. 气候变化与我国木薯北移的可能性分析[J]. 中国热带农业, 2014, 59(4): 4-8. OU W J, LUO X Q, AN F F, LI K M. Analysis of climate change and the possibility of cassava moving northward in China[J]. China Tropical Agriculture, 2014, 59(4): 4-8. (in Chinese)
- [3] EL-SHARKAWY M A. Cassava biology and physiology cassava: a crop for sustainable agriculture and food security in developing countries[J]. Plant Molecular Biology, 2004, 56: 481-501.
- [4] PARMAR A, STURM B, HENSEL O. Crops that feed the world: production and improvement of cassava for food, feed, and industrial uses[J]. Food Security, 2017, 9(5): 907-927.
- [5] 卢辉, 卢芙蓉, 梁晓, 陈青. 基于生态位模型的木薯绵粉蚧潜在适生性分析研究[C]//中国热带作物学会第九次全国会员代表大会暨 2015 年学术年会论文摘要集, 2015: 69. LU H, LU F P, LIANG X, CHEN Q. Potential suitability analysis of mealybug in cassava based on niche model[C]. Summary of Papers from the 9th National Congress of the Chinese Tropical Crop Society and the 2015 Academic Annual Conference, 2015: 69. (in Chinese)
- [6] 冬晓. 我国将木薯绵粉蚧和异株苋亚属杂草列为进境检疫性有害生物[J]. 农业技术与装备, 2011(14): 77. DONG X. *Phenacoccus manihoti* and *Amaranthus* weeds are listed as quarantine pests in China[J]. Agricultural Technology & Equipment, 2011(14): 77. (in Chinese)
- [7] BELLOTTI A C, BRAUN A R, ARIAS B, CASTILLO J A, GUERRERO J M. Origin and management of Neotropical cassava arthropod pests[J]. Louvain Medical, 1994, 2(4): S41-42.
- [8] PARSA S, KONDO T, WINOTAI A. The cassava mealybug (*Phenacoccus manihoti*) in Asia: first records, potential distribution, and an identification key[J]. Public Library of Science, 2012, 7(10): 343.
- [9] NWANZE F K. Relationships between cassava root yields and crop infestations by the mealybug, *Phenacoccus manihoti*[J]. Tropical Pest Management, 1982, 28(1): 27-32.
- [10] MUNIAPPAN R, SHEPARD B M, WATSON G W, CARNER G R, RAUF A, SARTIAMI D, HIDAYAT P, AFUN J V K, GOERGEN G, RAHMAN A K M, ZIAUR. New records of invasive insects (Hemiptera: Sternorrhyncha) in Southeast Asia and West Africa[J]. Journal of Agricultural & Urban Entomology, 2009, 26(4): 167-174.
- [11] LOHR B, VARELA AM, SANTOS B. Exploration for natural enemies of the cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti* (Homoptera: Pseudococcidae), in South America for the biological control of this introduced pest in Africa[J]. Bulletin of Entomological Research, 1990, 80(4): 417-425.
- [12] WAR A R, PAULRAJ M G, AHMAD T, BUHROO A A, HUSSAIN B, IGNACIMUTHU S, SHARMA H C. Mechanisms of plant defense against insect herbivores[J]. Plant Signaling Behavior, 2012, 7(10): 1306-1320.
- [13] SMITH C M. Conventional breeding of insect-resistant crop plants: still the best way to feed the world population[J]. Current Opinion in Insect Science, 2021, 45: 7-13.
- [14] 王军妮, 黄艳红, 牟志美, 王彦文. 植物次生代谢物黄酮类化合物的研究进展[J]. 蚕业科学, 2007, 33(3): 499-505. WANG J N, HUANG Y H, MU Z M, WANG Y W. Research progress on flavonoid of the plant secondary metabolites[J]. Science of Sericulture, 2007, 33(3): 499-505. (in Chinese)
- [15] CHEN Q, LIANG X, WU C, LIU Y, LIU X Q, ZHAO H P, LI K M, CHEN S B, WANG H Y, HAN Z L, WU M F, YAO X W, SHUI J, QIAO Y, ZHAN X, ZHANG Y. Over-expression of leucoanthocyanidin reductase or anthocyanidin reductase elevates tannins content and confers cassava resistance to two-spotted spider mite[J/OL]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13. [2023-08-14]. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.994866>.
- [16] 颜健, 杨忠艳, 黎平, 白根祥. 樱花素作为激发子在诱导农作物抗虫中的应用: CN202110313675.1[P]. 2023-08-14. YAN J, YANG Z Y, LI P, BAI G X. The application of sakuranin as an elicitor in inducing crop insect resistance: CN202110313675.1[P]. 2023-08-14. (in Chinese)
- [17] 简桂良, 卢美光, 王志兴, 贾士荣, 邹亚飞, 程红梅, 孙文姬. *Chi* 基因导入对转 Bt 棉花抗病虫性的影响[J]. 农业生

- 物技术学报, 2004, 12(4): 478-479.
- JIAN G L, LU M G, WANG Z X, JIA S R, ZOU Y F, CHENG H M, SUN W J. Influence of *Chi* gene on cotton insect and disease resistance[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2004, 12(4): 478-479. (in Chinese)
- [18] YANG Z Q, CHEN H, TAN J H, XU H L, JIA J, FENG Y H. Cloning of three genes involved in the flavonoid metabolic pathway and their expression during insect resistance in *Pinus massoniana* Lamb[J]. Genetics and Molecular Research, 2016, 15(4): 15049332.
- [19] YAO X W, LIANG X, CHEN Q, LIU Y, WU C L, WU M F, SHUI J, QIAO Y, ZHANG Y, GENG Y. MePAL6 regulates lignin accumulation to shape cassava resistance against two-spotted spider mite[J]. Frontiers in Plant Science, 2023, 13: 1067695.
- [20] 陈青, 梁晓, 伍春玲, 陈谦, 王亚茹. 不同木薯品种对木瓜秀粉蚧生殖和发育的影响[J]. 基因组学与应用生物学, 2020, 39(5): 2177-2182.
- CHEN Q, LIANG X, WU C L, CHEN Q, WANG Y R. Effects of different cassava cultivars on reproduction and development of mealybug[J]. Genomics and Applied Biology, 2020, 39(5): 2177-2182. (in Chinese)
- [21] 陈谦. 木瓜秀粉蚧对不同木薯种质的寄主选择性研究[D]. 海口: 海南大学, 2022.
- CHEN Q. Study on the host selectivity of *Paracoccus marginatus* to different cassava germplasms[D]. Haikou: Hainan University, 2022. (in Chinese)
- [22] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method[J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408.
- [23] LI P, LI Y J, ZHANG F J, ZHANG G Z, JIANG X Y, YU H M, HOU B K. The *Arabidopsis* UDP-glycosyltransferases *UGT79B2* and *UGT79B3*, contribute to cold, salt and drought stress tolerance via modulating anthocyanin accumulation[J]. Plant Journal, 2017, 89(1): 85-103.
- [24] ZHANG P P, DU H Y, WANG J, YU D Y. Multiplex CRISPR/Cas9-mediated metabolic engineering increases soya bean isoflavone content and resistance to *Soyabean mosaic virus*[J]. Plant Biotechnology Journal, 2020, 18(6): 1384-1395.
- [25] 刘晓庆, 张大勇, 徐照龙, 许玲, 黄益洪, 何晓兰, 马鸿翔, 易金鑫. Cd 胁迫对大豆幼苗异黄酮合成关键酶基因表达的影响[J]. 江苏农业学报, 2013, 29(5): 974-978.
- LIU X Q, ZHANG D Y, XU Z L, XU L, HUANG Y H, HE X L, MA H X, YI J X. Gene expression of isoflavonoid synthesis related enzymes in soybean [J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2013, 29(5): 974-978. (in Chinese)
- [26] MURATA K, KITANO T, YOSHIMOTO R, TAKATA R, UBE N, UENO K, UENO M, YABUTA Y, TERAISHI M, HOLLAND C, JANDER G, OKUMOTO Y, MORI N, ISHIHARA A. Natural variation in the expression and catalytic activity of a naringenin 7-O-methyltransferase influences antifungal defenses in diverse rice varieties[J]. Plant Journal, 2020, 101(5): 1103-1117.
- [27] 王爽, 张顺斌, 王旭东, 于佰双, 陈井生, 王惠, 段玉玺. 大豆胞囊线虫胁迫下 *GmCHS* 基因表达及异黄酮含量变化分析[J]. 大豆科学, 2021, 40(1): 21-27.
- WANG S, ZHANG S B, WANG X D, YU B S, CHEN J S, WANG H, DUAN Y X. Expression analysis of *GmCHS* gene and isoflavone content changes under soybean cyst nematode stress[J]. Soybean Science, 2021, 40(1): 21-27. (in Chinese)
- [28] CAO Y, XING M, XU C, LI X. Biosynthesis of flavonol and its regulation in plants[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2018, 45(1): 177-192.
- [29] JAN R, KHAN M A, ASAF S, LEE I J, KIM K M. Overexpression of *OsF3H* modulates WBPH stress by alteration of phenylpropanoid pathway at a transcriptomic and metabolomic level in *Oryza sativa*[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 14685.
- [30] ONKOKESUNG N, REICHELT M, VAN D A, SCHUURINK R C, VAN L J J A, MARCEL D. Modulation of flavonoid metabolites in *Arabidopsis thaliana* through overexpression of the *MYB75* transcription factor: role of kaempferol-3,7-dirhamnoside in resistance to the specialist insect herbivore *Pieris brassicae*[J]. Journal of Experimental Botany, 2014, 65(8): 2203-2217.
- [31] YAO Q, PENG Z, TONG H, YANG F B, XING G S, WANG L J, ZHENG J J, ZHANG Y J, SU Q. Tomato plant flavonoids increase whitefly resistance and reduce spread of *Tomato yellow leaf curl virus*[J]. Journal of Economic Entomology, 2019, 112(6): 2790-2796.
- [32] SIMMONDS M, STEVENSON P C. Effects of isoflavonoids from cicer on larvae of *Helicoverpa armigera*[J]. Journal of Chemical Ecology, 2001, 27(5): 965-77.