

木质素合成基因 *HCT*、*CCoAOMT* 在木薯抗木瓜秀粉蚧中的作用初探

熊凡荣^{1,2,3}, 陈青^{2,3*}, 刘迎^{2,3}, 伍春玲^{2,3}, 安兴奎^{2,3}, 梁晓^{2,3}, 陈银华¹

1. 海南大学热带农林学院, 海南儋州 571737; 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: 木质素在木薯抵御有害生物过程中起重要防御作用, 其中莽草酸羟基肉桂酰转移酶 (*HCT*) 和咖啡酰辅酶 A-O-甲基转移酶 (*CCoAOMT*) 基因是木质素生物合成的关键基因, 然而这 2 个基因在木薯抗木瓜秀粉蚧 (*Paracoccus marginatus* Williams) 中的具体功能尚未明确。为了探讨木薯对木瓜秀粉蚧的抗虫防御反应机制, 本研究以抗虫木薯品种 C1115 和感虫木薯品种 KU50 为参试材料, 比较分析取食抗、感品种后的木瓜秀粉蚧的发育与繁殖和生命表参数差异。取食 C1115 后的卵-雌成虫发育历期为 38.50 d, 显著长于 KU50 的 28.86 d; 平均单雌产卵量为 221 粒, 显著低于 KU50 的 331 粒; 雌成虫平均寿命为 4.30 d, 显著短于 KU50 的 8.83 d; 净增殖率、内禀增长率和周限增长率分别为 224.13、0.10 d⁻¹ 和 1.11 d⁻¹, 均显著低于 KU50 的 330.67、0.12 d⁻¹ 和 1.12 d⁻¹; 世代周期和种群加倍时间分别为 50.25 d 和 6.44 d, 显著长于 KU50 的 49.98 d 和 5.97 d, 研究结果表明 C1115 能显著抑制木瓜秀粉蚧的发育、繁殖和种群增长。进一步采用 qPCR 和酶活性检测的方法, 比较分析木瓜秀粉蚧取食前后的 C1115 和 KU50 叶片中木质素合成相关基因 *HCT*、*CCoAOMT* 表达量及其编码酶活性的变化, 发现木瓜秀粉蚧取食后的 C1115 的 *HCT*、*CCoAOMT* 表达量及其编码酶活性均呈下降趋势, C1115 的 *HCT* 表达量及其编码酶活性为 KU50 的 52.99%、74.42%, 而 *CCoAOMT* 表达量及其编码酶活性分别为 KU50 的 66.81%、73.91%。采用 Spearman 相关性分析, 发现 *HCT*、*CCoAOMT* 基因表达量及其编码酶活性与木薯对木瓜秀粉蚧的抗性均呈负相关, 推测这 2 个基因的下调表达可能影响木薯叶片的木质素积累及其抗虫防御反应水平。本研究为深入解析木质素调控木薯对木瓜秀粉蚧的抗虫防御反应分子机制奠定良好基础。

关键词: 木薯; 木瓜秀粉蚧; 发育; 繁殖; 种群增长; 木质素合成基因

中图分类号: S433.1 文献标志码: A

Preliminary Study on the Role of Lignin Biosynthesis Genes *HCT* and *CCoAOMT* in Cassava Resistance to *Paracoccus marginatus*

XIONG Fanrong^{1,2,3}, CHEN Qing^{2,3*}, LIU Ying^{2,3}, WU Chunling^{2,3}, AN Xingkuai^{2,3}, LIANG Xiao^{2,3}, CHEN Yinhu¹

1. School of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Danzhou, Hainan 571737, 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 Agricultural Sciences / Hainan Key Laboratory for Biosafety Monitoring and Molecular Breeding in Off-Season Reproduction Regions, Sanya, Hainan 572000, China

收稿日期 2025-04-01; 接受日期 2025-06-13

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); 国家重点研发计划项目 (No. 2023YFD-1600605); 农业农村部农业资源调查与保护利用专项 (No. NFZX-2024)。

作者简介 熊凡荣 (2000—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 资源利用与绿色防控。*通信作者 (Corresponding author): 陈青 (CHEN Qing), E-mail: chqingztq@163.com。

Abstract: Lignin serves a crucial defensive function in cassava's resistance to harmful organisms. Among the genes involved in lignin biosynthesis, shikimate hydroxycinnamoyl transferase (*HCT*) and caffeoyl coenzyme A-O-methyltransferase (*CCoAOMT*) are of particular importance. Yet, their specific roles in cassava's resistance to the insect pest *P. marginatus* remain to be fully elucidated. To elucidate the anti-insect defense mechanisms of cassava against *P. marginatus*, we conducted comparative studies using insect-resistant cultivar C1115 and susceptible cultivar KU50. Life table analysis revealed significant cultivar-dependent effects on pest developmental biology. Specifically, C1115-fed females exhibited significantly prolonged developmental duration (38.50 days in C1115 vs. 28.86 days in KU50), significantly reduced fecundity (221 eggs in C1115 female vs. 331 eggs in KU50 female), and significantly shortened adult longevity (4.30 days in C1115 vs. 8.83 days in KU50). Notably, population growth parameters demonstrated significant comprehensive suppression in C1115 cohorts: net reproductive rate ($R_0=224.13$ in C1115 vs. 330.67 in KU50), intrinsic growth rate ($r_m=0.10\text{ d}^{-1}$ in C1115 vs. 0.12 d^{-1} in KU50), and finite growth rate ($\lambda=1.11\text{ d}^{-1}$ in C1115 vs. 1.12 d^{-1} in KU50). Furthermore, extended generation time ($T=50.25$ in C1115 vs. 49.98 days in KU50) and doubling time ($Dt=6.44$ in C1115 vs. 5.97 days in KU50) were observed, indicating multilevel inhibition of pest population dynamics by C1115. Molecular characterization showed progressive downregulation of lignin biosynthesis genes *HCT* and *CCoAOMT* post-infestation in C1115. Although both cultivars exhibited suppression patterns, C1115 maintained significantly lower expression levels (52.99%, 66.81% of KU50) and enzymatic activities (74.42%, 73.91% of KU50) across timepoints. Using Spearman correlation analysis, it was found that both *HCT* and *CCoAOMT* gene expression levels and the activity of their encoded enzymes were negatively correlated with cassava resistance to *P. marginatus*. This suggests that the downregulation of these two genes may affect lignin accumulation in cassava leaves and the level of insect resistance defense responses. This study has laid a solid preliminary work foundation for in-depth analysis of the molecular mechanisms by which lignin regulates cassava's defense responses against *P. marginatus*.

Keywords: cassava; *Paracoccus marginatus*; development; reproduction; population growth; lignin synthesis gene

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2025.09.013

木薯 (*Manihot esculenta* Crantz) 主要分布于热带、亚热带地区, 是超过 10 亿人口的主粮和重要的经济作物^[1]。木瓜秀粉蚧 (*Paracoccus marginatus* Williams) 是世界危险性农林害虫和我国木薯主栽区四大有害生物之一, 其寄主植物高达 54 科 172 个属^[2]。主要为害植株的茎叶, 常导致叶片枯萎黄化、卷缩变形、枝条干枯、果实弱小畸形和落花落果, 甚至整株死亡^[3]。此外, 木瓜秀粉蚧会分泌蜜露覆盖植物表面, 阻碍光合作用并引发煤烟病, 进一步削弱植株生长^[4]。目前, 木瓜秀粉蚧已扩散至五大洲 44 个国家和地区, 且在我国海南、广西、广东、云南等木薯主产区发生严重, 并呈加重危害趋势^[5]。目前该虫主要依赖化学防治, 但该粉蚧主要在木薯移栽 6 个月后暴发成灾, 此时木薯地已封行, 难以施药, 加之有效防治粉蚧的登记药剂种类较少, 大剂量、高频率不合理用药导致害虫抗药性增强、产地生态环境变差和农产品质量安全问题突出, 因此如何有效控制木瓜秀粉蚧为害已成为我国木薯产业健康可持续发展中亟待解决的“卡脖子”难题^[6]。

木质素是一类广泛存在于植物体内的次生代谢产物, 在作物抵御害虫侵袭的过程中发挥着关键作用^[7]。研究表明木质素的合成途径可通过不同

分子机制被调控, 进而影响植物的抗虫能力^[8]。WANG 等^[9]发现在菊花中过表达 *CmMYB19* 转录因子可显著提高木质素含量, 从而抑制蚜虫的繁殖; TIAN 等^[10]研究发现, 昆虫毒素 LqhIT2 作为一种外源激发子可激活水稻茉莉酸信号通路, 诱导苯丙烷代谢途径关键基因的表达, 最终导致木质素合成增加并提升水稻的抗虫性能; WANG 等^[11]研究发现过表达 *PdCSD2* 基因的杨树 (*Populus L.*) 木质素合成途径基因 *PAL* 等显著上调表达, 显著提高了杨树对鞘翅目害虫的抗性。*HCT* 和 *CCoAOMT* 基因是木质素生物合成的关键基因, 在木质素合成途径中分别催化不同的反应步骤, 通过调控这 2 个基因可以改变木质素的含量和单体比例, 进一步影响作物的抗虫功能^[12]。吕蕾^[13]研究发现, 过表达 *HCT* 可显著提升杨树木质素含量, 引起细胞壁增厚、纤维排列紧密, 从而抑制天牛幼虫的蛀食; 姚连梅等^[14]研究发现, 通过下调白桦树 (*Betula platyphylla* Suk.) 的 *CCoAOMT* 基因, 会导致次生代谢物 (如酚酸) 的积累, 增强对光肩星天牛 (*Anoplophora glabripennis* Motsch.) 幼虫的的化学防御。但迄今为止, 有关木质素合成基因 *HCT* 和 *CCoAOMT* 在木薯对木瓜秀粉蚧的防御反应中的作用鲜有报道。

鉴于此, 本研究以前期鉴定的抗虫木薯品种 C1115 和感虫木薯品种 KU50 为参试材料^[5], 从害虫-寄主互作的角度, 比较分析木瓜秀粉蚧取食抗、感木薯品种后的发育与繁殖和种群生命表参数差异, 并在此基础上进一步分析木薯木质素合成相关基因 *HCT* 和 *CCoAOMT* 的表达量及其编码酶活性差异, 以及基因表达量、酶活性和木薯抗虫性的相关性, 以期初步阐明木质素调控木薯对抗木瓜秀粉蚧的防御反应机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试木薯 抗虫木薯品种 C1115 与感虫木薯品种 KU50 均由中国热带农业科学院国家种质资源圃提供, 通过茎秆扦插的方式统一种植, 种植土比例为土壤: 泥炭土: 珍珠岩=1: 1: 1, 置于温室进行培养, 光周期设置为 16 h (光照): 8 h (黑暗), 温度为(28±2)℃, 相对湿度为(65±5)%。

1.1.2 供试木瓜秀粉蚧 木瓜秀粉蚧为本实验室养殖繁育多代的虫源, 用木薯品种 KU50 在养虫室饲养, 养虫室条件: 温度(25±2)℃, 光周期设置为 14 h (光照): 10 h (黑暗), 湿度为(80±10)%。

1.2 方法

1.2.1 发育、繁殖和种群生命表构建 用毛笔将木瓜秀粉蚧雌成虫(3龄若虫刚蜕皮后变成的雌成虫)接于 C1115 和 KU50 的叶片背面, 每张叶片 20 头, 并用浸湿的吸水纸包住叶片边缘防止粉蚧逃离, 然后置于长 50 cm, 宽 30 cm 的完全被 ddH₂O 润湿的海绵盘上, 放入光周期设置为 14 h (光照): 10 h (黑暗)、温度为 28℃、相对湿度(75±5)%的气候培养箱内饲养, 每隔 24 h 观察其产卵情况, 集中收集饲养 10 d 后的虫卵以保持卵龄期的一致性^[15]。取 C1115 和 KU50 各 50 张叶片并进行编号, 每张叶片接 10 粒卵, 待卵孵化后用毛笔清除多余 1 龄若虫(卵), 每张叶片只保留 1 头 1 龄若虫, 发育至 2 龄若虫后, 保留 30 张(30 个重复)带有雌虫的叶片继续观察, 记录卵、1 龄若虫期、2 龄若虫期、3 龄若虫期的发育时间和存活数量, 其中不同龄期虫态的划分依据陈青等^[6]的方法。每隔 7 d 更换新的叶片, 饲养条件如前所述。待雌成虫性成熟开始产卵后, 每天收集每个重复的卵块, 用 75% 酒精去除卵囊(呈丝线状)后在显微镜下计数卵粒数量, 直至粉蚧不再产卵至死亡, 统计产卵量、产卵天数和雌虫寿命。

根据木瓜秀粉蚧的发育历期、存活率、产卵量、成虫寿命等数据, 建立种群生命表, 计算种群生命表参数。种群生命表参数计算方法: 种群净生殖率 $R_0 = \sum l_x \cdot m_x$; 平均世代周期 $T = \sum x \cdot l_x \cdot m_x / R_0$; 内禀增长率 $r_m = \ln R_0 / T$; 周限增长率 $\lambda = e^{r_m}$; 种群加倍时间 $D_t = \ln 2 / r_m$, 其中, x 为特定龄期, l_x 为特定龄期的存活率, m_x 为在 x 期间平均每头雌成虫产卵数。

1.2.2 接虫与取样 选取温室培养 6 个月、长势一致、无病虫害的 C1115 和 KU50 各 12 株, 用细毛笔将木瓜秀粉蚧雌成虫(3龄若虫刚蜕皮后变成的雌成虫)接于植株顶部嫩叶下方 3 张叶片背面, 在叶柄基部涂上羊毛脂防止粉蚧迁移, 分别于接虫前(0 d)和接虫后 1、4、8 d 采集叶片, 同时用毛笔扫除叶片上粉蚧, 每个时间点采集 3 株木薯, 采集后迅速将叶片放入锡纸袋中, 并使用液氮冷冻处理后置于-80℃保存备用。

1.2.3 基因实时荧光定量 PCR 分析 根据 KEGG 网站 (<https://www.kegg.jp/kegg/>) 已发布的木薯木质素合成通路基因莽草酸羟基肉桂酰转移酶 (*HCT*) 和咖啡酰辅酶 A-O-甲基转移酶 (*CCoAOMT*) 基因序列, 设计 *HCT*、*CCoAOMT* 引物(表 1)。采用 RNAprep Pure 植物多糖多酚总 RNA 提取试剂盒提取接虫前(0 d)和接虫后 1、4、8 d 的抗虫木薯品种 C1115 和感虫木薯品种 KU50 叶片的 RNA, 用 1% 琼脂糖凝胶电泳与超微量紫外分光光度计 (Thermo) 检测其纯度和完整性。确认可用于后续试验后, 取 1.0 μg 经 ThermoScript 1st Strand cDNA Synthesis Kit (Vazyme, 中国) 除去 gDNA 的 RNA 样品, 用于 cDNA 合成。内参基因为木薯 *Meactin*, qPCR 反应体系配制则参照 2×Q3 SYBR qPCR Master Mix 试剂盒 (TOLOBIO, 中国)。PCR 反应条件为 95℃ 下预变性 1 min, 进行 40 个循环反应: 95℃ 变性 15 s, 58℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 15 s。以未经木瓜秀粉蚧取食的木薯叶片的木质素合成通路基因表达量为对照 1.0, 虫害后的木薯木质素合成途径基因表达量变化情况以为害前的相对倍数表示, 根据 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算而得, 每个处理均设置 3 个重复^[16]。

1.2.4 *HCT*、*CCoAOMT* 酶活性测定 称取 0.1 g 木薯叶片组织粉末于 1.5 mL 离心管中, 加入预冷的 1×PBS 缓冲液 (0.01 mol/L, pH=7.4), 充分漩涡震荡 30 s 后, 7500 r/min 离心 15 min, 吸取上

表 1 木薯木质素合成途径候选基因引物

Tab. 1 Candidate gene primers for lignin synthesis pathway

基因 Gene	引物序列 (5'-3') Primer sequence (5'-3')	退火温度 $T_m/^\circ\text{C}$	引物长度 Product size/bp
<i>HCT</i>	F: GACCTTGTGGTGCCGAGATTC	61.7	137
	R: CGTCCAGCCATCGGATAGAAC	61.9	
<i>CCoAOMT</i>	F: CTGGGTCTGCCTGTTATCC	54.9	201
	R: CACTCCTCCAACCTTCACTAA	52.1	
<i>Actin</i>	F: GAAGTCCTGTTCCAACCATCT	54.4	154
	R: AACCAACCGCTAAGCACTATGT	64.4	

清液即为待测液。使用上海酶联生物公司 (<https://mlbio.cn>) 的酶联免疫检测试剂盒进行 HCT (YJ390687)、CCoAOMT (YJ580011) 酶活性测定, 具体操作依据各个试剂盒的说明书进行。

1.3 数据处理

采用 Excel 2019 软件进行数据处理, 采用 Graphpad prism 9.5 软件进行绘图。使用 DPS 软件 (V7.05-V9.01) 采用单因素方差 (Duncan 新复极差法) 进行分析不同处理间的差异; 抗、感品种之间的差异分析采用 *t*-检验分析。通过 Spearman 法分析基因表达量、酶活性和虫害指数之间的相关性。

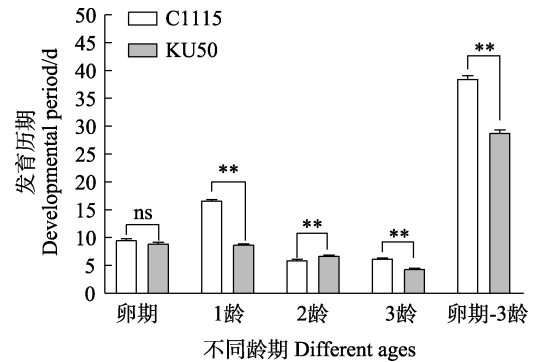
2 结果与分析

2.1 取食抗、感木薯品种的木瓜秀粉蚧发育历期差异分析

由图 1 可知, 取食抗虫品种 C1115 的木瓜秀粉蚧的卵期、1 龄若虫期、2 龄若虫期、3 龄若虫期和卵-3 龄若虫期的平均发育历期分别为 9.56、16.70、5.96、6.26、38.50 d, 取食 KU50 的平均发育历期分别为 8.93、8.76、6.76、4.40、28.86 d。C1115 与 KU50 相比, 卵期无显著差异, 2 龄若虫期显著短于 KU50, 其余龄期均显著长于 KU50, 结果表明, 抗虫品种 C1115 能显著延长木瓜秀粉蚧发育历期。

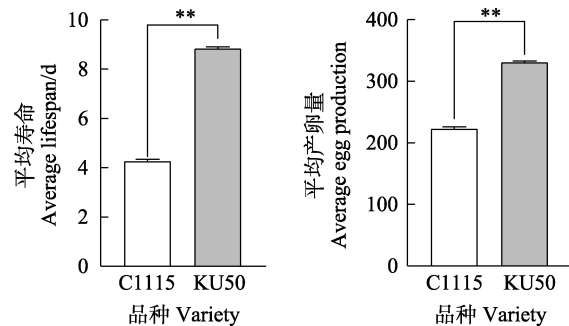
2.2 取食抗、感木薯品种的木瓜秀粉蚧寿命和产卵量差异分析

由图 2 可知, 取食抗性品种 C1115 的木瓜秀粉蚧平均雌成虫寿命为 4.30 d, 显著低于取食感虫品种 KU50 的 8.83 d, 为 KU50 的 48.69%; 平均单雌产卵量分别为 221 粒, 显著低于取食感虫品种 KU50 的 331 粒, 为 KU50 的 66.77%。上述结果表明, 抗虫品种 C1115 能够显著缩短木瓜秀粉蚧的雌成虫寿命和降低其产卵量。



**表示差异极显著 ($P<0.01$), ns 表示无显著差异。
** indicates extremely significant difference ($P<0.01$), ns indicates no significant difference.

图 1 取食抗、感木薯品种叶片的木瓜秀粉蚧发育历期
Fig. 1 Development cycle of *P. marginatus* feeding on the leaves of the resistant and susceptible cassava varieties



**表示差异极显著 ($P<0.01$)。
** indicates extremely significant difference ($P<0.01$)。

图 2 取食抗、感木薯品种叶片影响木瓜秀粉蚧雌成虫平均寿命和平均产卵量
Fig. 2 Feeding on the leaves of cassava varieties that are resistant or susceptible to infection affects the lifespan and reproductive capacity of female adults of *P. marginatus*

2.3 取食抗、感虫品种的木瓜秀粉蚧生命表参数差异分析

由表 2 可知, 取食抗虫品种 C1115 的木瓜秀粉蚧的净增殖率、内禀增长率、周限增长率分别为 224.13、0.10 d^{-1} 和 1.11 d^{-1} , 均显著低于取食感虫品种 KU50 的 330.67、0.12 d^{-1} 和 1.12 d^{-1} ; 世代周

表 2 取食抗、感木薯品种的木瓜秀粉蚧生命表参数

Tab. 2 Life parameters of *P. marginatus* feeding on resistant and susceptible cassava varieties

品种 Variety	净增值率 R_0	内禀增长率 $r_m/(d^{-1})$	周限增长率 $\lambda/(d^{-1})$	平均世代周期 T/d	种群加倍时间 D/d
C1115	224.13±2.95 ^b	0.10±0.0058 ^b	1.11±0.0065 ^b	50.25±0.44 ^a	6.44±0.06 ^a
KU50	330.67±2.03 ^a	0.12±0.0102 ^a	1.12±0.0115 ^a	49.98±0.51 ^b	5.97±0.10 ^b

注: 同列不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference ($P<0.05$).

期和种群加倍时间分别为 50.25 d 和 6.44 d, 显著长于取食 KU50 的 49.98 d 和 5.97 d。上述结果表明, 抗虫品种 C1115 能够显著抑制木瓜秀粉蚧种群增长。

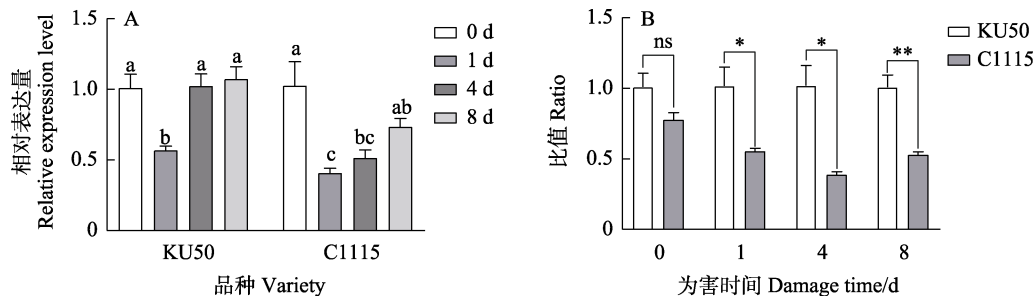
2.4 木瓜秀粉蚧取食前后抗、感木薯品种叶片中的 *HCT* 基因表达差异分析

由图 3 可知, 木瓜秀粉蚧为害后, *HCT* 基因在抗虫木薯品种 C1115 中基因表达量显著下降, 而在感虫木薯品种 KU50 中的表达量为先降低后升高。比较抗、感虫木薯品种相同虫害时间内, *HCT* 基因的表达量变化发现, 抗虫木薯品种 C1115 的表达量在相同虫害时间内 (1、4、8 d), 均显著低于感虫木薯品种 KU50。通过 Spearman

相关性分析表明, *HCT* 基因表达量与木薯品种的抗虫性呈负相关 ($P=-0.98$)。

2.5 木瓜秀粉蚧为害前后抗、感木薯品种叶片中的 *CCoAOMT* 基因表达差异分析

由图 4 可知, 木瓜秀粉蚧为害后, *CCoAOMT* 基因在抗虫木薯品种 C1115 中的表达量表现出为害后先显著升高后显著降低, 为害 4 d 后在感虫木薯品种 KU50 中的表达量显著降低。进一步比较抗、感品种相同为害时间点, 抗虫木薯品种 C1115 的表达量在相同虫害时间内 (0、4 d), 均显著低于感虫木薯品种 KU50。通过 Spearman 相关性分析表明, *CCoAOMT* 基因表达量与木薯品种的抗虫性呈负相关 ($P=-0.51$)。



A: 木瓜秀粉蚧为害前后抗、感品种不同时间基因表达量; 不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。B: 木瓜秀粉蚧为害前后同一时间抗、感品种间基因表达量比值; *表示差异显著 ($P<0.05$), **表示差异极显著 ($P<0.01$), ns 表示无显著差异。

A: The gene expression levels of resistant and susceptible varieties at different time points before and after the damage of *P. marginatus*; Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$). B: The ratio of gene expression levels between resistant and susceptible varieties at the same time before and after the damage of *P. marginatus*; * indicates significant difference ($P<0.05$), ** indicates extremely significant difference ($P<0.01$), ns indicates no significant difference.

图 3 木瓜秀粉蚧为害前后不同时间抗、感品种 *HCT* 基因表达量变化

Fig. 3 Changes in *HCT* gene expression levels in resistant and susceptible varieties of *P. marginatus* before and after damage at different time

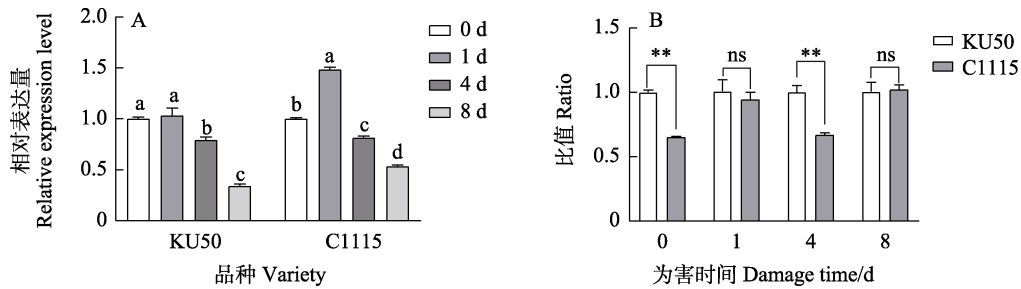
2.6 木瓜秀粉蚧为害抗、感木薯前后叶片中的 *HCT* 酶活性变化分析

由图 5 可知, 木瓜秀粉蚧为害后, 抗虫木薯中 *HCT* 酶活性显著下降, 而感虫木薯品种中的 *HCT* 酶活性呈先下降后升高趋势。比较相同时间的酶活性, 为害 4 d 后抗性品种 C1115 的 *HCT* 酶活性显著低于感性品种 KU50, 再结合 Spearman 相关性分析表明, *HCT* 酶活性和木薯品种的抗虫

性呈负相关 ($P=-0.78$)。

2.7 木瓜秀粉蚧为害抗、感木薯前后叶片中的 *CCoAOMT* 酶活性变化分析

由图 6 可知, 木瓜秀粉蚧为害后, 抗、感木薯品种中的 *CCoAOMT* 酶活性均呈先升高后下降趋势, 在感虫品种 KU50 中变化较为显著。比较相同时间的酶活性, 在木瓜秀粉蚧为害后的 1 d 和 4 d 均显著低于感虫品种 KU50, 再结合 Spearman 相

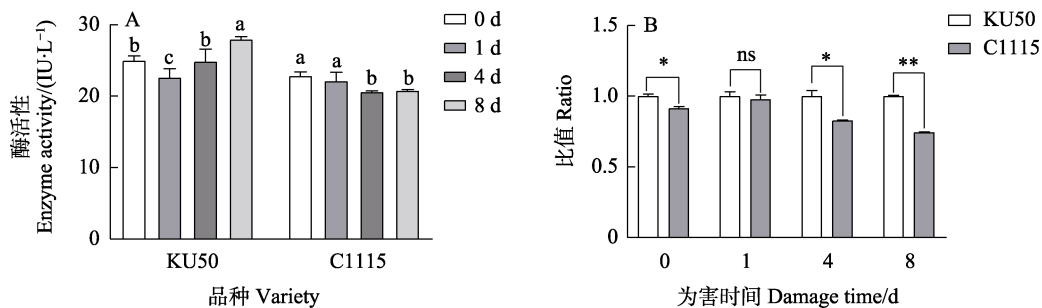


A: 木瓜秀粉蚧为害前后抗、感品种不同时间基因表达量; 不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。B: 木瓜秀粉蚧为害前后同一时间抗、感品种间基因表达量比值; **表示差异极显著 ($P<0.01$), ns 表示无显著差异。

A: The gene expression levels of resistant and susceptible varieties at different time points before and after the damage of *P. marginatus*; Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$). B: The ratio of gene expression levels between resistant and susceptible varieties at the same time before and after the damage of *P. marginatus*; ** indicates extremely significant difference ($P<0.01$), ns indicates no significant difference.

图 4 木瓜秀粉蚧为害前后不同时间抗、感品种 CCOAOMT 基因表达量变化

Fig. 4 Changes in CCOAOMT gene expression levels of resistant and susceptible varieties before and after damage by *P. marginatus* at different time

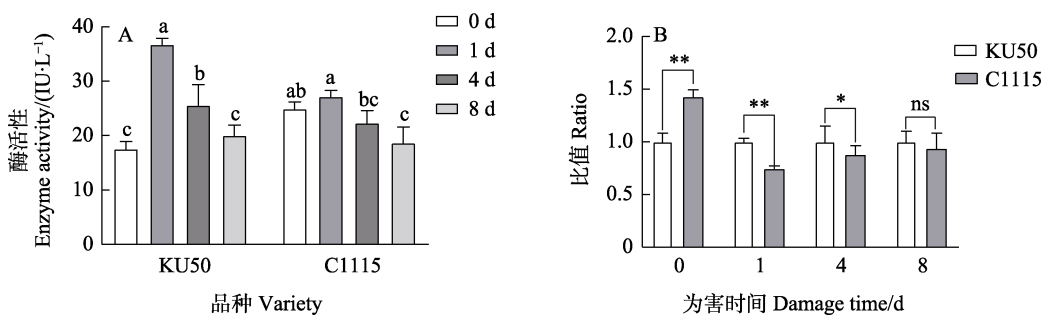


A: 木瓜秀粉蚧为害前后抗、感品种不同时间酶活性; 不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。B: 木瓜秀粉蚧为害前后同一时间抗、感品种间酶活性比值; *表示差异显著 ($P<0.05$), **表示差异极显著 ($P<0.01$), ns 表示无显著差异。

A: Enzyme activity of resistant and susceptible varieties at different times before and after damage by *P. marginatus*; Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$). B: Enzyme activity ratio between resistant and susceptible varieties at the same time before and after damage by *P. marginatus*; * indicates significant difference ($P<0.05$), ** indicates extremely significant difference ($P<0.01$), ns indicates no significant difference.

图 5 木瓜秀粉蚧为害抗、感木薯前后叶片中的 HCT 酶活性变化

Fig. 5 Changes in HCT enzyme activity in the leaves of cassava before and after resistance and susceptibility to *P. marginatus* damage



A: 木瓜秀粉蚧为害前后抗、感品种不同时间酶活性; 不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。B: 木瓜秀粉蚧为害前后同一时间抗、感品种间酶活性比值; *表示差异显著 ($P<0.05$), **表示差异极显著 ($P<0.01$), ns 表示无显著差异。

A: Enzyme activity of resistant and susceptible varieties at different times before and after damage by *P. marginatus*; Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$). B: Enzyme activity ratio between resistant and susceptible varieties at the same time before and after damage by *P. marginatus*; * indicates significant difference ($P<0.05$), ** indicates extremely significant difference ($P<0.01$), ns indicates no significant difference.

图 6 木瓜秀粉蚧为害抗、感木薯前后叶片中的 CCOAOMT 酶活性变化

Fig. 6 Changes in CCOAOMT enzyme activity in the leaves of cassava before and after resistance and susceptibility to *P. marginatus* damage

关性分析表明, *CCoAOMT* 酶活性和木薯品种的抗虫性呈负相关($P=-0.39$)。

3 讨论

木质素通过构建物理屏障、释放抗生物物质干扰害虫生理活动及抑制其为害, 木质素含量较高的作物品种通常具有更强的抗虫防御能力^[17]。WANG 等^[18]研究发现, 抗虫苜蓿 (*Medicago sativa* L.) 被蓟马 (*Odontothrips loti* Haliday) 为害后会诱导次生代谢物质含量变化, 其中木质素含量显著升高, 对蓟马的防御作用显著增强。MYOUNG-HOON 等^[19]研究发现, 拟南芥 (*Arabidopsis thaliana* L.) 受病原菌侵染会导致木质素沉积并导致病原菌停止生长。过表达杨树显著提高木质素含量, 引起细胞壁增厚、纤维排列紧密, 从而抑制天牛幼虫的蛀食^[13]。本研究发现, 与感虫木薯品种 KU50 相比, 抗虫木薯品种 C1115 能够显著延长木瓜秀粉蚧的发育历期, 显著降低其雌成虫寿命、产卵量及种群增长。在前期研究中, 我们通过代谢组分析发现, C1115 品种的诸多木质素前体物质例如香豆醇、松柏醇和芥子醇及木质素含量均显著高于 KU50^[20], 因此我们推测 C1115 对木瓜秀粉蚧的抗性与其较高的木质素含量有关。

植物受害虫胁迫后, 木质素合成及其调控基因的表达特性显著影响其抗虫防御能力^[21]。许多研究表明, 虫害胁迫能够显著激活木质素合成基因表达, 促进木质素在害虫取食部位的积累并抑制其进一步为害。吕国胜^[22]在抗虫菊花研究中发现, 蚜虫胁迫激活茉莉酸信号通路, 并诱导木质素的合成, 使得维管束结构强化并阻碍蚜虫取食。WU 等^[23]利用转基因技术诱导水稻木质素合成基因过表达, 促使木质素在细胞壁中定向沉积, 其形成的刚性结构可有效阻碍褐飞虱 (*Nilaparvata lugens* Stål.) 刺吸式口器的穿透, 虫害率大幅降低。YAO 等^[24]通过敲低抗螨木薯品种木质素合成关键基因 *MePAL6* 的表达, 显著降低叶片木质素含量, 导致品种抗螨性显著降低。木质素合成基因的上游转录因子也能调控其表达并影响作物的木质素积累。例如, *GbERF1-like* 过表达会促进棉花叶片中木质素合成相关基因如 *HCT*、*PAL* 等的表达, 导致木质素含量增加, 并正调控植物对大丽轮枝菌 (*Verticillium dahlia* Kleb.) 的抗性^[25]。在众多木质素合成调控基因中, *HCT* 和 *CCoAOMT* 能够协同调控木质素单体的羟基化和甲基化, 影

响 G/S 型木质素比例, 决定细胞壁强度及对有害生物的抵御能力^[26], 关于诱导激活这 2 个基因的表达, 并赋予作物抗性的研究已在大豆 (*Glycine max*) 抗胞囊线虫 (*Heterodera glycines* Ichinohe.)^[27]、茶树 (*Camellia sinensis* L.) 对冠状土壤杆菌 (*Agrobacterium tumefaciens* Smith)^[28]、玉米 (*Zea mays* L.) 和锈病 (*Puccinia sorghi* Schw.)^[29] 等的互作研究中得到证实。然而, 也有研究表明作物下调木质素合成基因也能提高其对有害生物的抗性水平。利用基因编辑敲除烟草 *CCoAOMT6* 基因导致烟草中 2 种木质素单体 (S 型和 G 型) 比例升高, 总糖含量下降, 对细菌枯萎病和褐斑病抗病性增强^[30]。*CCoAOMT* 下调表达的转基因紫花苜蓿 (*Medicago sativa* L.) 接种尖孢镰刀菌苜蓿专化型 (*Fusarium oxysporum* Schltdl.) 后, 部分木质素合成中间体如美迪紫檀素和 7,4'-二羟基黄酮等 (异) 黄酮类化合物显著积累, 并能有效抑制病菌的体外生长, 表明 *CCoAOMT* 下调植株中上述化合物的积累增加及代谢通量转移与诱导抗病性密切相关^[31]。由此可见, 激活或下调 *HCT*、*CCoAOMT* 均能提高作物对有害生物的抗性防御能力, 具体实现方式可能与作物品种、害虫种类有关。然而, 当前尚未见干预 *HCT* 或 *CCoAOMT* 表达介导的木薯对害虫的防御反应的相关报道。本研究发现, 木瓜秀粉蚧为害后, 这 2 个基因的表达量及其编码的酶活性在抗虫、感虫木薯品种中均显著降低, 并且抗虫木薯品种 C1115 中降低的幅度更大, 我们推测抗虫木薯品种可能通过下调木质素合成基因 *HCT* 及 *CCoAOMT*, 导致具有抗虫功能的木质素或其中间产物累积, 从而抑制了木瓜秀粉蚧的种群增长。

本研究仅依据抗虫木薯品种对木瓜秀粉蚧发育与繁殖的抑制效应, 以及木质素合成相关基因 *HCT*、*CCoAOMT* 的表达显著下调, 来推测这 2 个基因可能与木薯品种抗虫性有关, 尚缺乏直接的分子证据, 后续研究拟通过转基因手段过表达或敲除上述 2 个基因, 并分析木质素及其中间体的含量变化, 尤其是抗、感木薯品种的抗虫表型变化, 为直接验证 *HCT*、*CCoAOMT* 在木薯品种对木瓜秀粉蚧的抗性中的分子功能提供理论依据。

参考文献

- [1] 刘丽娟, 黄洁, 魏云霞, 王娟, 何时雨, 吴健雄, 李伯松,

- 马旭东, 郑永清. 我国木薯的食用与休闲利用现状及其发展对策[J]. 江西农业学报, 2020, 32(5): 145-150.
- LIU L J, HUANG J, WEI Y X, WANG J, HE S Y, WU J X, LI B S, MA X D, ZHENG Y Q. Current situation and development countermeasures of edible cassava and its leisure utilization in China[J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 2020, 32(5): 145-150. (in Chinese)
- [2] SHIVAKUMARA T K, CHINAPOLIAH A, KEERTHI C M, RAMYA S R, GOTYAL S B. Identification and characterization of novel resistant genotypes of *Gymnema sylvestre* (Retz.) R. Br. ex Sm. against invasive mealybug species, *Phenacoccus solenopsis* Tinsley and *Paracoccus marginatus* Williams and Granara de Willink for sustainable pest management[J]. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 2024(39): 39100534.
- [3] 张江涛, 武三安. 中国大陆—新入侵种—木瓜秀粉蚧[J]. 环境昆虫学报, 2015, 37(2): 441-447.
- ZHANG J T, WU S A. A new invasive mealybug, *Paracoccus marginatus* (Hemiptera: Coccoidea: Pseudococcidae), in mainland China[J]. Journal of Environmental Entomology, 2015, 37(2): 441-447. (in Chinese)
- [4] 王秋月. 两种杀虫剂对新入侵害虫木瓜秀粉蚧的亚致死效应[D]. 福州: 福建农林大学, 2020.
- WANG Q Y. Sublethal effects of two insecticides against *Paracoccus marginatus* (Hemiptera: Pseudococcidae)[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2020. (in Chinese)
- [5] 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, 2020.
- CHEN Q. Study on the host selectivity of papaya mealybug (*Paracoccus marginatus*) to different cassava germplasm[D]. Haikou: Hainan University, 2020. (in Chinese)
- [6] 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. Influence of different cassava cultivars on reproduction and development of *Paracoccus marginatus*[J]. Genomics and Applied Biology, 2020, 39(5): 2177-2182. (in Chinese)
- [7] WANG W, ZHOU X, HU Q, WANG Q, ZHOU Y, YU J, GE S, HANG L, GUO H, TANG M, LI X. Lignin metabolism is crucial in the plant responses to *Tambocerus elongatus* (Shen) in *Camellia sinensis* L.[J]. Plants, 2025, 14(2): 260-260.
- [8] 吴丹丹. 木质素调节植物生长的生物活性及其构-效机制[D]. 南京: 南京林业大学, 2023.
- WU D D. Bioactivity and structure-activity relationship of lignin on plant growth and development[D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2023. (in Chinese)
- [9] WANG Y, SHENG L, ZHANG H, DU X, AN C, XIA X, CHEN F, JIANG J, CHEN S M. CmMYB19 over-expression improves aphid tolerance in chrysanthemum by promoting lignin synthesis[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2017, 18(3): 619.
- [10] TIAN P X, LI D, QIU P, ZHU Y, LI S Q. Scorpion peptide LqhIT2 activates phenylpropanoid pathways via jasmonate to increase rice resistance to rice leafrollers[J]. Plant Science, 2015, 230: 1-11.
- [11] WANG D, LIU F, ZHAO M Y, YU X H, FENG J P, WANG W, LU M Z, LI W, TANG X F, WANG C P, ZHOU G K. Engineering transgenic *Populus* with enhanced biomass, wood quality and pest resistance through dual gene expression[J]. Plant Biotechnology Journal, 2025, 23(4): 1345-1347.
- [12] 王华美, 于延冲, 付春祥, 周功克, 高欢欢. 木质素合成关键酶咖啡酰辅酶 A 氧甲基转移酶的研究进展[J]. 基因组学与应用生物学, 2014, 33(2): 458-466.
- WANG M H, YU Y C, FU C X, ZHOU G K, GAO H H. Progress of a key Enzyme-Caffeoyl-CoA 3-O-methyltransferase in lignin biosynthesis[J]. Genomics and Applied Biology, 2014, 33(2): 458-466. (in Chinese)
- [13] 吕蔷. 杨树对天牛抗性的研究进展[J]. 现代农业科技, 2010(8): 170-172.
- LYU Q. Research progress about resistance of poplar against Cerambycida[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2010(8): 170-172. (in Chinese)
- [14] 姚连梅, 胡晓晴, 周菲, 郑要强, 王国东, 刘雪梅. 白桦反义 *CCoAOMT* 基因调控木质素生物合成[J]. 植物研究, 2019, 39(1): 123-130.
- YAO L M, HU X Q, ZHOU F, ZHENG Y Q, WANG G D, LIU X M. Antisense *CCoAOMT* gene regulates lignin biosynthesis in *Betula platyphylla*[J]. Bulletin of Botanical Research, 2019, 39(1): 123-130. (in Chinese)
- [15] CHEN Q, LIU X Q, LIANG X, LIU Y, WU C L, XU L X, WU Y, CHEN Q, YAO X W, QIAO Y, SHUI J. Resistant cassava cultivars inhibit the papaya mealybug *Paracoccus marginatus* population based on their interaction: from physiological and biochemical perspectives[J]. Journal of Pest Science, 2022, 96(2): 555-572.
- [16] DUAN X G, XU J, LING E, ZHANG P. Expression of Cry1Aa in cassava improves its insect resistance against *Helicoverpa armigera*[J]. Plant Molecular Biology, 2013, 83(1/2): 131-41.
- [17] 张宇, 刘世琦, 张自坤, 杨晓建, 马琳, 黄治军, 陈昆. 苯丙烷代谢与嫁接黄瓜抗南方根结线虫的关系[J]. 中国蔬菜, 2010(22): 54-58.

- ZHANG Y, LIU S Q, ZHANG Z K, YANG X J, MA L, HUANG Z J, CHEN K. Relationship between phenylpropanes metabolism and grafted cucumber resistance to Southern Root-knot Nematode[J]. *China Vegetables*, 2010(22): 54-58. (in Chinese)
- [18] WANG X S, YANG C L, WANG S S, HU J X. Changes of phenols and lignin contents in alfalfa leaf damaged by *Odontothrips loti*[J]. *Journal of Applied Ecology*, 2014, 25(6): 1688-1692.
- [19] MYOUNG-HOON L, HWI S J, SEU H K, JOO H C, DANIELE R, HYE-JUNG L, HONG J C, YUKI T, JOHN R, OHKMAE K P. Lignin-based barrier restricts pathogens to the infection site and confers resistance in plants[J]. *The EMBO Journal*, 2019, 38(23): e101948.
- [20] CHEN Q, LIANG X, WU C L, 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]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 994866.
- [21] 李孟园. 木质素介导茶树应对小贯小绿叶蝉为害的防御反应[D]. 福州: 福建农林大学, 2022.
- LI M Y. Lignin mediated defensive responses of tea plant (*Camellia sinensis*) against *Empoasca onukii* (Matsuda) attack[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2022. (in Chinese)
- [22] 吕国胜. 木质素与多头切花菊弯颈及蚜虫抗性的相关性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2011.
- LYU G S. Studies on the relationship between lignin and bent neck and aphid resistance in spray cut chrysanthemum[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2011. (in Chinese)
- [23] DI W, GUO J P, ZHANG Q, SHI S J, GUAN W, ZHOU C, CHEN E Z, DU B, ZHU L L, HE G C. OsEXO70H3 regulating SAMSL excretion and lignin deposition in cell walls is required for rice resistance to planthoppers[J]. *The New phytologist*, 2022, 234(3): 1031-1046.
- [24] 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.
- [25] GUO W F, LI J, MIAO Y H, HE X, HU Q, GUO K, ZHU L F, ZHANG X L. An ethylene response-related factor, *GbERF1-like*, from *Gossypium barbadense* improves resistance to *Verticillium dahliae* via activating lignin synthesis[J]. *Plant Molecular Biology*, 2016, 91(3): 305-318.
- [26] LAI Z, WANG J, FU Y, WANG M H, MA H, PENG S Q, CHANG F. Revealing the role of *CCoAOMT1*: fine-tuning bHLH transcription factors for optimal anther development[J]. *Science China Life Sciences*, 2024, 67(3): 565-578.
- [27] 郭子雯, 司修洋, 焦莉苹, 刘大伟. 大豆咖啡酰辅酶 A-O-甲基转移酶 (*CCoAOMT*) 基因克隆及结构分析[J]. *福建农业学报*, 2023, 38(5): 616-623.
- GUO Z W, SI X Y, JIAO L P, LIU D W. Cloning and bioinformatics of *CCoAOMT* relating to resistance of soybean to cyst nematodes[J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2023, 38(5): 616-623. (in Chinese)
- [28] CHEN Y F, YI N, YAO S B, ZHUANG J H, FU Z P, MA J, YIN S X, JIANG X L, LIU Y J, GAO L P, XIA T. *CsHCT*-mediated lignin synthesis pathway involves in the response of tea plants to biotic and abiotic stresses[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(35): 10069-10081
- [29] WANG G F, BALINT-KURTI P J. Maize homologs of *CCoAOMT* and *HCT*, two key enzymes in lignin biosynthesis, form complexes with the NLR Rp1 protein to modulate the defense response[J]. *Plant Physiology*, 2016, 171(3): 2166-2177.
- [30] LIU M X, LIU H Y, ZHANG J D, LI C, LI Y K, YANG G Y, XIA T, HUANG H T, XU Y, KONG W S, HOU B Z, QI X Q, WANG J. Knockout of *CAFFEOYL-COA 3-O-METHYLTRANSFERASE 6/6L* enhances the S/G ratio of lignin monomers and disease resistance in *Nicotiana tabacum*[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14: 1216702.
- [31] GILL U S, UPPALAPATI S R, GALLEGO-GIRALDO L, ISHIGA Y, DIXON R A, MYSORE K S. Metabolic flux towards the (iso) flavonoid pathway in lignin modified alfalfa lines induces resistance against *Fusarium oxysporum* f. sp. *medicaginis*[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2017, 41(9): 1997-2007.