

α -茄碱对马铃薯块茎蛾生长发育及代谢解毒的影响



闫寒¹ 董文博^{1,2} 高玉林³ 侯清芳^{1,2} 周钰佳¹ 陈昱儒¹
刘明月¹ 李芬^{1,2*} 吴少英^{1,2*}

(1. 海南大学三亚南繁研究院, 三亚 572025; 2. 海南大学热带农林学院, 儋州 571737; 3. 中国农业科学院植物保护研究所, 植物病虫害综合治理全国重点实验室, 北京 100193)

摘要: 为有效防治世界性检疫害虫马铃薯块茎蛾 *Phthorimaea operculella*, 测定不同浓度 α -茄碱胁迫下马铃薯块茎蛾生长发育、解毒酶活性和细胞色素 P450 (cytochrome P450, CYP450) 基因表达量的变化, 选择相对表达量差异较显著的 2 个 CYP450 基因进行 RNA 干扰试验, 测定干扰这 2 个 CYP450 基因后, 马铃薯块茎蛾存活率、体重和龄期的变化。结果显示: α -茄碱可以抑制马铃薯块茎蛾幼虫的生长发育; α -茄碱能够诱导马铃薯块茎蛾幼虫体内 CYP450 酶和谷胱甘肽 S-转移酶活性上升, 同时抑制乙酰胆碱酯酶与羧酸酯酶活性。在 α -茄碱胁迫下, 马铃薯块茎蛾体内 6 个 CYP450 基因在肠道中高表达, 且随着 α -茄碱浓度升高, 其表达量总体呈现先上升后下降的趋势。干扰 CYP340CQ1 和 CYP6AE221 基因后用 α -茄碱饲喂马铃薯块茎蛾, 其存活率、幼虫体重和 3~4 龄幼虫期均较对照发生变化。表明 CYP450 基因在马铃薯块茎蛾对 α -茄碱的代谢解毒中可能发挥着重要作用。

关键词: 马铃薯块茎蛾; α -茄碱; 生长发育; 解毒酶; RNA 干扰

Effects of α -solanine on growth, development and metabolic detoxification of potato tuber moth *Phthorimaea operculella*

Yan Han¹ Dong Wenbo^{1,2} Gao Yulin³ Hou Qingfang^{1,2} Zhou Yujia¹ Chen Yuru¹
Liu Mingyue¹ Li Fen^{1,2*} Wu Shaoying^{1,2*}

(1. College of Breeding and Multiplication, Hainan University, Sanya 572025, Hainan Province, China; 2. School of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Danzhou 571737, Hainan Province, China; 3. State Key Laboratory for Biology of Plant Disease and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract: To effectively manage and control worldwide quarantine pest potato tuber moth *Phthorimaea operculella*, the effects of α -solanine at different concentrations on the growth, development, detoxification enzyme activity, and cytochrome P450 (CYP450) gene expression of *P. operculella* were investigated. Two CYP450 genes with significant relative expression changes were selected for RNA interference (RNAi) experiments. Changes in survival rate, body weight, and developmental stage of *P. operculella* were analyzed after interference with these two CYP450 genes. The results showed that α -solanine inhibited the growth and development of *P. operculella* larvae. α -solanine induced an increase in the activity of CYP450 enzymes and glutathione S-transferase, while it inhibited the activity of acetylcholinesterase and carboxylesterase. Under α -solanine stress, six CYP450 genes were highly expressed in larval intestines, with expression levels generally increasing initially and then declining as α -solanine

concentration increased. RNAi targeting of *CYP340CQ1* and *CYP6AE221*, followed by α -solanine feeding, resulted in significant changes in survival rate, larval weight, and 3rd to 4th instar larval stage of *P. operculella*. These findings indicate that CYP450 genes play an essential role in the detoxification and metabolism of α -solanine in *P. operculella*. This study provides insights into the detoxification mechanisms of α -solanine and offers new strategies for the prevention and control of *P. operculella*.

Key words: *Phthorimaea operculella*; α -solanine; growth and development; detoxification enzyme; RNA interference

马铃薯块茎蛾 *Phthorimaea operculella* 属鳞翅目麦蛾科,是一种世界性检疫害虫。作为一种寡食性害虫,主要为害茄科植物,特别偏好第四大粮食作物马铃薯 *Solanum tuberosum*,严重影响马铃薯产量和品质,带来了粮食安全和食品安全问题(Amruthraj et al., 2014; Yuan et al., 2018)。马铃薯块茎蛾偏好在干燥环境中产卵,其幼虫和蛹均能在霜冻及 0 °C 以下的环境中生存,对环境的强大适应性和高繁殖力使其广泛分布。目前,在所有马铃薯产区均发现了马铃薯块茎蛾(Rondon, 2020)。马铃薯块茎蛾主要以幼虫进行为害,其通常在马铃薯叶片上钻孔,导致叶片卷曲甚至干枯,可使马铃薯减产 20%~30%(Rondon, 2010; 徐进等, 2019);成虫将卵产在露天土壤的马铃薯块茎上,孵化后留在块茎内的幼虫通过芽眼或伤口钻入块茎内部,用排泄物填满隧道,最终造成块茎干瘪或腐烂,显著影响马铃薯产量,严重时绝收(王文倩等, 2020; 杜霞等, 2021)。

马铃薯糖苷生物碱(potato glycoalkaloid, PGA)是马铃薯中天然存在的一类重要的有毒次生代谢物质,属于甾体糖苷生物碱,具有抑制植物病原微生物侵染或生长、阻止昆虫取食的作用,对植物具有保护作用(Friedman, 2004; 陈伟等, 2018)。PGA 主要成分为 α -茄碱和 α -卡茄碱(占 PGA 总量的 95% 以上),同时还存在其他类型糖苷生物碱,如 α -茄碱的水解产物 β -茄碱和 γ -茄碱(陈铭等, 2020)。马铃薯不同组织中的 PGA 含量不同,其中在地上部分叶片和地下块茎的薯皮中含量较高,这些部位大量积累的 PGA 能有效抵御病虫害为害(Arnqvist et al., 2003; Ruprich et al., 2009)。PGA 浓度一定程度上与马铃薯的代谢活动有关,虫害会导致马铃薯中 PGA 水平发生变化(黄红苹等, 2011)。目前 PGA 被认为是人类食物中的有毒物质之一,但具有良好的抗虫作用,可作为一种天然杀虫剂(Mekapogu, 2016; 曾凡逵, 2022)。Tingey (1984)报道马铃薯对马铃薯甲虫 *Leptinotarsa decemlineata* 的抗性与其体内 α -茄碱的含量正相关;Friedman(2004)研究表明, α -茄碱具有

杀虫活性, α -茄碱可延迟大戟长管蚜 *Macrosiphum euphorbiae* 若虫发育,减少若虫数量;Fragoyiannis et al. (2001)研究发现 α -茄碱可降低桃蚜 *Myzus persicae* 成虫的繁殖力、取食能力及体重,进而增加若虫的死亡率;Büyükgüzel et al. (2013)研究表明,饲喂含 α -茄碱的饲料后,蜡螟 *Galleria mellonella* 幼虫、蛹和成虫的存活率下降,成虫繁殖力降低。此外, Nenaah (2011)报道 α -茄碱对赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* 有急性毒性。尽管 α -茄碱具有杀虫活性,但马铃薯块茎蛾却能在含有 α -茄碱的马铃薯上正常生长和发育,并取食含有较高浓度 α -茄碱的组织,如马铃薯芽和嫩叶(Tingey, 1984; Friedman, 2004)。因此,马铃薯块茎蛾可能对 α -茄碱有潜在的适应或解毒机制(Wang et al., 2022)。在植物次生物质胁迫下,昆虫可以通过调节解毒酶的活性来调节解毒过程,从而维持正常的生长发育。参与昆虫外源毒素代谢的主要解毒酶包括细胞色素 P450 (cytochrome P450, CYP450)酶、酯酶(esterase, EST)和谷胱甘肽 *S*-转移酶(glutathione *S*-transferase, GST)(Winde & Wittstock, 2011; Zhang et al., 2012; 李海超等, 2023)。昆虫 CYP450 酶主要参与外源毒素的初级代谢,其基因的表达受次级代谢产物的影响,在昆虫对植物防御系统中发挥着重要作用(Schuler, 2011; 陈澄宇等, 2015)。

为有效防治马铃薯块茎蛾的发生和为害,测定不同浓度 α -茄碱胁迫下马铃薯块茎蛾生长发育、解毒酶活性和 CYP450 基因表达量的变化,选择相对表达量差异较显著的 2 个 CYP450 基因进行 RNA 干扰试验,测定干扰这 2 个 CYP450 基因后,马铃薯块茎蛾存活率、体重和 3~4 龄幼虫期的变化,以期明确马铃薯块茎蛾对 α -茄碱的代谢解毒机制提供理论依据,为马铃薯块茎蛾的防治提供新靶标。

1 材料与方法

1.1 材料

供试昆虫和植物:2013年6月于云南省昆明市

马铃薯植株上采集马铃薯块茎蛾幼虫,先在马铃薯块茎上饲养20代以上,再分出一部分虫源于温度25~27℃、光周期12L:12D、相对湿度(70±10)%人工培养箱中用本氏烟草 *Nicotiana benthamiana* 叶片连续饲养5代以上,取3龄幼虫供试。本氏烟草种子购于武汉伯远生物科技有限公司,于人工培养箱中种植,条件同上,待长到第8片真叶时取叶片供试。马铃薯品种为云薯304,购于海南省三亚市崖州区崖州湾科技城第一农贸市场。

试剂及仪器: α -茄碱,上海甄准生物科技有限公司;昆虫CYP450酶联免疫分析试剂盒,南京草本源生物科技有限公司;GST活性检测试剂盒、乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)活性检测试剂盒、羧酸酯酶(carboxylesterases, CarE)活性检测试剂盒,北京索莱宝科技有限公司;TRIzol试剂,美国Invitrogen公司;PrimeScript™ RT Reagent Kit,宝日医生物技术(北京)有限公司;Phanta Max Master Mix试剂盒、T7 High Yield RNA Transcription Kit、ChamQ Universal SYBR RT-qPCR Master Mix试剂盒,南京诺唯赞生物科技股份有限公司;其他试剂均为国产分析纯。Synergy H1多功能酶标仪,美国BioTek仪器有限公司;UV-15紫外切胶仪,北京兰杰柯科技有限公司;NanoDrop OneC紫外可见分光光度计,美国赛默飞世尔科技公司;960-T梯度PCR仪,杭州晶格科学仪器有限公司;DYY-6C型电泳仪,北京六一生物科技有限公司;全自动数码凝胶图像分析系统,上海天能科技有限公司;AriaMx实时荧光定量PCR仪,安捷伦科技(中国)有限公司。

1.2 方法

1.2.1 α -茄碱对马铃薯块茎蛾生长发育的影响

α -茄碱对马铃薯块茎蛾3龄幼虫处理48h的LC₂₅、LC₅₀、LC₇₅以及LC₉₀分别为37.882、55.671、81.813以及115.691 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Yan et al., 2023)。按照上述浓度称取相应质量 α -茄碱溶于丙酮溶液中,配制LC₂₅、LC₅₀、LC₇₅和LC₉₀浓度的 α -茄碱溶液。取长5cm、宽4cm的烟草叶片,置于LC₂₅浓度 α -茄碱中浸泡15s,以于丙酮中浸泡的叶片为对照,取出晾干后分别放入长22.4cm、宽15.4cm、高8.2cm的透明塑料养虫盒内,每个盒子放5片叶片,然后接入大小一致的马铃薯块茎蛾3龄幼虫,每盒30头试虫,每个盒子为1个重复,每个处理重复3次。每2d更换1次烟草叶片,每24h各处理随机选择10头试虫,观察其发育和化蛹情况,计算幼虫发育历期。饲喂4d后,各处理随机选取10头幼虫,置于-80℃冰箱中10min,取出后测量其体长、头壳宽和体重,重复

3次。各处理随机选择10头刚化蛹,称量蛹重,重复3次。

1.2.2 α -茄碱对马铃薯块茎蛾解毒酶活性的影响

试验共设4个处理:(1)取长5cm、宽4cm的烟草叶片,分别置于LC₇₅和LC₉₀浓度的 α -茄碱中浸泡15s,取出晾干后分别放入长22.4cm、宽15.4cm、高8.2cm的透明塑料养虫盒内,每个盒子放5片叶片;(2)取5块100g健康马铃薯块茎,放入上述相同尺寸的透明塑料养虫盒内;(3)取长5cm、宽4cm的烟草叶片,放入上述相同尺寸的透明塑料养虫盒内,每个盒子放5片叶片(对照)。每盒接入大小一致的马铃薯块茎蛾3龄幼虫50头,每个处理重复3次。饲喂48h后,每个处理随机挑选5头活泼幼虫,于液氮快速冷冻后置于-80℃储存备用。每个处理称取40mg幼虫样品,加入400 μL 磷酸缓冲液,于冰上充分研磨后,分别按照CYP450酶联免疫分析试剂盒及GST、AChE和CarE活性检测试剂盒说明书测定不同解毒酶的活性,重复3次。CYP450、GST和AChE的酶活单位均为 $\text{mmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$, CarE的酶活单位为 $\text{nmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$,1个酶活力单位表示1mg幼虫样品中酶在1min内转化的底物量。

1.2.3 α -茄碱对马铃薯块茎蛾CYP450基因的影响

α -茄碱浓度对马铃薯块茎蛾CYP450基因的影响:根据Yan et al. (2023)转录组分析结果,不同浓度 α -茄碱胁迫处理后6个CYP450基因的表达量变化较大,分别为CYP324A71 (GenBank登录号为PP801001)、CYP333A40 (GenBank登录号为PP801002)、CYP340CQ1 (GenBank登录号为PP801003)、CYP6AE221 (GenBank登录号为PP801004)、CYP9A314 (GenBank登录号为PP801005)、CYP9G75 (GenBank登录号为PP801006)。分别用0、LC₂₅、LC₅₀及LC₇₅浓度的 α -茄碱饲喂马铃薯块茎蛾3龄幼虫,方法同1.2.1,每个处理50头试虫,重复3次。饲喂48h后,每个处理随机选择5头幼虫,重复3次,冷冻研磨后采取TRIzol试剂提取总RNA,以RNA为模板按照PrimeScript™ RT Reagent Kit说明书反转录合成cDNA。CYP324A71、CYP333A40、CYP340CQ1、CYP6AE221、CYP9A314和CYP9G75基因引物参考Yan et al. (2023),引物均委托北京擎科生物科技股份有限公司合成。以EF1 α 和核糖体蛋白L13基因(ribosomal proteins 13L, RPL13)作为内参基因(Shen et al., 2022)进行实时荧光定量PCR(real-time quantitative PCR, RT-qPCR)反应。20 μL 反应体系:上下游引物各0.4 μL 、cDNA 2 μL 、ChamQ Universal

SYBR RT-qPCR Master Mix 10 μ L、ddH₂O 7.2 μ L。反应程序:95 $^{\circ}$ C 预变性 30 s;95 $^{\circ}$ C 变性 10 s,60 $^{\circ}$ C 退火延伸 30 s,循环 40 次;熔解曲线:95 $^{\circ}$ C 30 s,65 $^{\circ}$ C 30 s,95 $^{\circ}$ C 30 s,得到 *Ct* 值。以内参基因为基准,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算各 CYP450 基因的相对表达量(Livak & Schmittgen, 2001)。

α -茄碱处理时间对马铃薯块茎蛾 CYP450 基因的影响:根据上述试验结果,选取 4 个浓度中基因相对表达量差异最大的浓度对马铃薯块茎蛾 3 龄幼虫进行饲喂处理,每组处理 50 头试虫,重复 3 次,分别于处理后 6、12、24、48 和 72 h,每个处理时间随机选择 5 头,按照上述方法提取总 RNA,合成 cDNA,进行 RT-qPCR 分析,重复 3 次。

α -茄碱处理后不同组织中马铃薯块茎蛾 CYP450 基因表达量的测定:选取上述 4 个浓度和 5 个处理时间中基因相对表达量差异最大的浓度和时间对马铃薯块茎蛾 3 龄幼虫进行饲喂处理,每组处理 50 头试虫,重复 3 次,处理相应时间后,每组随机选择 5 头试虫置于冰上,用 1 \times PBS 缓冲液冲洗干净,用灭菌刀片和镊子解剖试虫,得到试虫的表皮、肠道、头、胸和腹,按照上述方法提取总 RNA,合成 cDNA,进行 RT-qPCR 分析,重复 3 次。

1.2.4 dsRNA 的合成及检验

以绿色荧光蛋白 (enhanced green fluorescent protein, EGFP) 基因 (GenBank 登录号为 AAB02572) 为阴性对照,根据 1.2.3 结果选择相对表达量差异较显著的 2 个 CYP450 基因进行 RNA 干扰试验。用在线软件 E-RNAi (<https://www.dkfz.de/signaling/emai3/idseq.php>) 设计 RNA 干扰引物 (表 1),并在引

物上加入 T7 启动子序列。取健康、大小一致的马铃薯块茎蛾 3 龄幼虫,按照 1.2.3 方法提取总 RNA,合成 cDNA。以合成的 cDNA 为模板,按照 Phanta Max Master Mix 试剂盒说明书扩增候选基因,将 PCR 产物回收与纯化,以产物作为合成 RNA 的 DNA 模板。按照 T7 High Yield RNA Transcription Kit 试剂盒说明书配制 20 μ L dsRNA 合成反应体系,用移液器将其轻轻搅拌混匀,于 4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min 条件下离心 3 min,37 $^{\circ}$ C 孵育 2 h,即分别获得 dsEGFP、dsCYP340CQ1 和 dsCYP6AE221。分别取合成的 dsEGFP、dsCYP340CQ1 和 dsCYP6AE221 进行酚/氯仿纯化,各取 2 μ L 纯化后的 dsEGFP、dsCYP340CQ1 和 dsCYP6AE221 进行电泳分析,各取 1 μ L 纯化后的 dsEGFP、dsCYP340CQ1 和 dsCYP6AE221 进行吸光度测量,检测合成 dsEGFP、dsCYP340CQ1 和 dsCYP6AE221 的质量。

1.2.5 dsRNA 沉默效率的测定

取新鲜烟草叶片剪成边长为 2 cm 的正方形叶碟,分别将 dsCYP340CQ1 和 dsCYP6AE221 溶液均匀涂抹于烟草叶上,将其分别放入长 22.4 cm、宽 15.4 cm、高 8.2 cm 的透明塑料养虫盒内,每盒 15 片,然后接入饥饿处理 12 h 的马铃薯块茎蛾 3 龄幼虫,每盒 30 头试虫,均以饲喂 dsEGFP 为对照,每盒为 1 个重复,每个处理重复 3 次,连续饲喂 dsRNA 24 h 后,更换用未经 dsRNA 处理的烟草叶片饲喂;每 2 d 更换 1 次,各处理同时更换。饲喂 dsRNA 叶片 24、48、72 和 96 h 后,每个处理各取 3 头活泼的 3 龄幼虫,按照 1.2.3 方法提取总 RNA,合成 cDNA,进行 RT-qPCR 分析,检测靶标基因的沉默效率。

表 1 RNA 干扰引物序列

Table 1 Primer sequences of genes used in RNA interference

基因名称 Gene name	引物序列 Primer sequence	扩增片段 Amplicon size/bp
EGFP	F: 5'- <u>TAATACGACTCACTATAGGG</u> CAGTGTTCAGCCGCTAC-3'	288
	R: 5'- <u>TAATACGACTCACTATAGGG</u> GTTTCACCTTGATGCCGTTTC-3'	
CYP340CQ1	F: 5'- <u>TAATACGACTCACTATAGGG</u> ACGCACCTCCACACCTATTTTC-3'	473
	R: 5'- <u>TAATACGACTCACTATAGGG</u> AACATCCAACCGCTTATCATTC-3'	
CYP6AE221	F: 5'- <u>TAATACGACTCACTATAGGG</u> ACGCACCTCCACACCTATTTTC-3'	433
	R: 5'- <u>TAATACGACTCACTATAGGG</u> GAGAAGTCCGTGAACACATCC-3'	

下划线部分为 T7 启动子序列。The underlined part represents the T7 promoter sequence.

1.2.6 dsRNA 对马铃薯块茎蛾生长发育指标的影响

为验证 RNA 干扰 CYP450 基因对马铃薯块茎蛾代谢 α -茄碱的影响,测定饲喂 dsCYP340CQ1 和

dsCYP6AE221 后马铃薯块茎蛾 3 龄幼虫的生长发育指标。分别用 dsCYP340CQ1 和 dsCYP6AE221 饲喂马铃薯块茎蛾 3 龄幼虫,以饲喂 dsEGFP 为对照,伺

喂方法同 1.2.5, 每盒 30 头试虫即 1 个重复, 每个处理重复 3 次。连续饲喂 dsRNA 24 h 后, 将每盒的 30 头试虫平均分为 2 组, 分别放入长 22.4 cm、宽 15.4 cm、高 8.2 cm 的透明塑料养虫盒内; 将长 5 cm、宽 4 cm 的烟草叶片置于浓度为 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 α -茄碱溶液中浸泡 15 s, 晾干后置于上述一组养虫盒中, 将丙酮溶液中浸泡 15 s 的相同大小叶片作为对照置于另一组养虫盒中, 每盒 3 片叶片, 每 2 d 更换 1 次烟草叶片, 直至幼虫化蛹, 记录马铃薯块茎蛾 3~4 龄幼虫的发育历期; 饲喂叶片 4 d 后, 记录幼虫的存活数量, 测量其体重, 计算存活率, 重复 3 次。

1.3 数据分析

采用 GraphPad Prism 7.0 软件进行数据分析,

两者之间应用 t 检验法进行差异显著性检验, 三者及以上采用 Duncan 氏新复极差法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 α -茄碱对马铃薯块茎蛾生长发育的影响

亚致死浓度 LC_{25} α -茄碱处理 4 d 后, 马铃薯块茎蛾的 3~4 龄幼虫期和蛹期分别为 9.30 d 和 9.20 d, 均较对照显著延长 ($P < 0.05$), 其体长、头壳宽、体重和蛹重分别为 7.44 mm、0.67 mm、7.61 mg 和 10.50 mg, 均较对照显著降低 ($P < 0.05$, 表 2), 表明 LC_{25} 亚致死浓度 α -茄碱处理显著影响马铃薯块茎蛾蛹和 3~4 龄幼虫的发育, 导致发育历期延长, 体重减轻。

表 2 亚致死浓度 LC_{25} α -茄碱对马铃薯块茎蛾生长发育的影响

Table 2 Effects of α -solanine at LC_{25} concentration on the growth and development of *Phthorimaea operculella*

测定指标 Testing parameter	对照 Control	亚致死浓度 LC_{25} Sublethal concentration LC_{25}
3~4 龄幼虫期 3rd to 4th instar larval stage/d	8.30±0.47 a	9.30±0.92 b
蛹期 Pupal period/d	8.43±0.57 a	9.20±0.61 b
体长 Body length/mm	8.35±0.21 a	7.44±0.46 b
头壳宽 Head capsule width/mm	0.70±0.23 a	0.67±0.03 b
幼虫体重 Larval body weight/mg	8.71±0.56 a	7.61±0.64 b
蛹重 Pupal weight/mg	11.05±0.69 a	10.50±0.67 b

表中数据为平均数±标准差。同行不同小写字母表示经 t 检验法检验差异显著 ($P < 0.05$)。Data are mean±SD. Different lowercase letters in the same row indicate significant difference by t test ($P < 0.05$).

2.2 α -茄碱浓度对马铃薯块茎蛾解毒酶活性的影响

不同浓度 α -茄碱处理后马铃薯块茎蛾体内 CYP450 活性均较对照显著上升 ($P < 0.05$), 其中 LC_{75} 浓度 α -茄碱处理后的 CYP450 活性最高, 是对照的 4.69 倍, 显著高于其他处理 ($P < 0.05$, 图 1-A); 不同浓度 α -茄碱处理后马铃薯块茎蛾 GST 活性均较对照显著增加 ($P < 0.05$), 其中 LC_{90} 浓度 α -茄碱处理后的 GST 活性最高, 是对照的 2.07 倍, 显著高于其他处理 ($P < 0.05$), 而饲喂马铃薯与 LC_{75} 浓度 α -茄碱处理后的 GST 活性相近 (图 1-B)。不同浓度 α -茄碱处理后马铃薯块茎蛾体内 AChE 与 CarE 活性均较对照显著降低 ($P < 0.05$, 图 1-C~D)。

2.3 α -茄碱对马铃薯块茎蛾 CYP450 基因表达的影响

2.3.1 α -茄碱浓度对 CYP450 基因表达的影响

随着 α -茄碱浓度升高, 马铃薯块茎蛾体内 CYP324A71、CYP6AE211、CYP9A314、CYP9G75 和 CYP340CQ1 基因的相对表达量均呈先上升后下降的趋势, 其中当浓度为 LC_{30} 时 CYP340CQ1 的相对表达量最高, 为对照的 7.70 倍, 显著高于其他处理 ($P <$

0.05); 当浓度为 LC_{25} 时, CYP324A71、CYP6AE211、CYP9A314 和 CYP9G75 的相对表达量均最高 (图 2)。而随着 α -茄碱浓度升高, 马铃薯块茎蛾体内 CYP333A40 的相对表达量呈先升高再下降然后再升高的趋势, 且当浓度为 LC_{75} 时 CYP333A40 的相对表达量最高, 为对照的 1.67 倍 (图 2)。

2.3.2 α -茄碱处理时间对 CYP450 基因表达的影响

随着 α -茄碱处理时间的推移, 马铃薯块茎蛾体内 6 个 CYP450 基因相对表达量总体呈先上升后下降的趋势 (图 3)。 α -茄碱处理 48 h 时, 马铃薯块茎蛾 CYP324A71、CYP333A40、CYP340CQ1 和 CYP9A314 的相对表达量达到最高, 分别为对照的 1.83 倍、1.67 倍、5.82 倍和 2.53 倍, 显著高于其他大部分处理时间 ($P < 0.05$)。处理 24 h 时, 马铃薯块茎蛾幼虫体内 CYP6AE221 相对表达量达到最高, 为对照的 3.43 倍; 处理 6 h 时, CYP6AE221 相对表达量最低, 为对照的 1.24 倍。处理 6 h 和 24 h 时, 马铃薯块茎蛾幼虫体内 CYP9G75 相对表达量达到最高, 分别为对照的 3.47 倍和 3.17 倍, 显著高于其他处理时间 ($P < 0.05$, 图 3)。

2.3.3 α -茄碱处理后不同组织中CYP450基因的表达

α -茄碱处理后,基因 *CYP324A71*、*CYP340CQ1*、*CYP6AE211* 和 *CYP9G75* 的相对表达量均在马铃薯块茎蛾幼虫肠道中最高,均显著高于在其他组织中的相对表达量 ($P < 0.05$),而 *CYP333A40* 基因的相对表达量在表皮中最高, *CYP9A314* 基因的相对表达

量在头部中最高(图4)。

2.4 马铃薯块茎蛾CYP450基因的RNA干扰

2.4.1 dsRNA合成质量检测

合成的 ds*CYP6AE221* 和 ds*CYP340CQ1* 的目的条带大小正确(图5), $OD_{260\text{ nm}}/OD_{280\text{ nm}}$ 值介于1.8~2.0之间,表明质量较好,可用于后续试验。

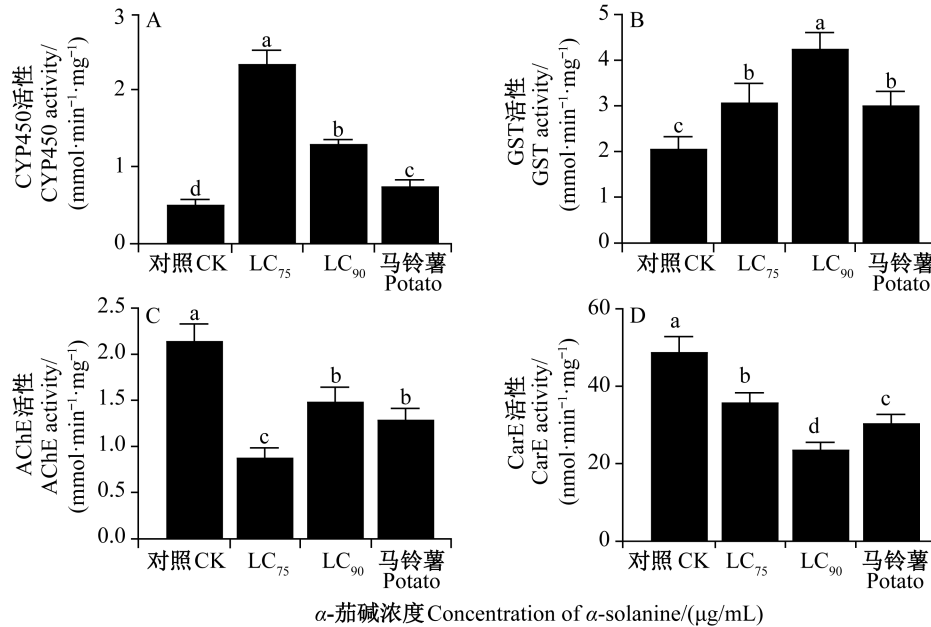


图1 α -茄碱浓度对马铃薯块茎蛾体内4种解毒酶活性的影响

Fig. 1 Effects of α -solanine concentration on the activities of four detoxifying enzymes in *Phthorimaea operculella*

图中数据为平均数 \pm 标准差。不同小写字母表示经Duncan氏新复极差法检验差异显著 ($P < 0.05$)。Data are mean \pm SD. Different lowercase letters indicate significant difference by Duncan's new multiple range test ($P < 0.05$).

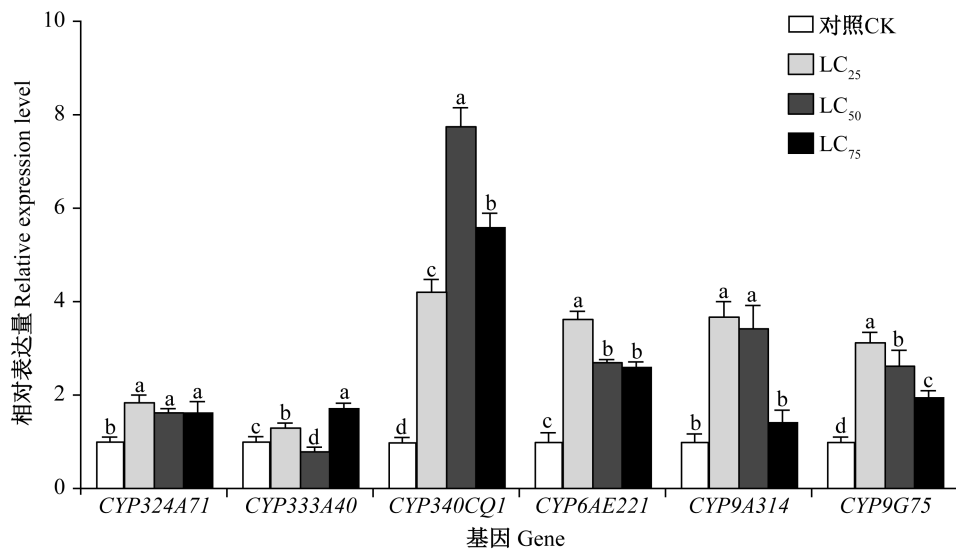


图2 α -茄碱浓度对马铃薯块茎蛾体内CYP450基因表达的影响

Fig. 2 Effects of α -solanine concentrations on relative expression levels of CYP450 genes in *Phthorimaea operculella*

数据为平均数 \pm 标准差。同基因下不同小写字母表示经Duncan氏新复极差法检验差异显著 ($P < 0.05$)。Data are mean \pm SD. Different lowercase letters indicate significant difference for the same gene by Duncan's new multiple range test ($P < 0.05$).

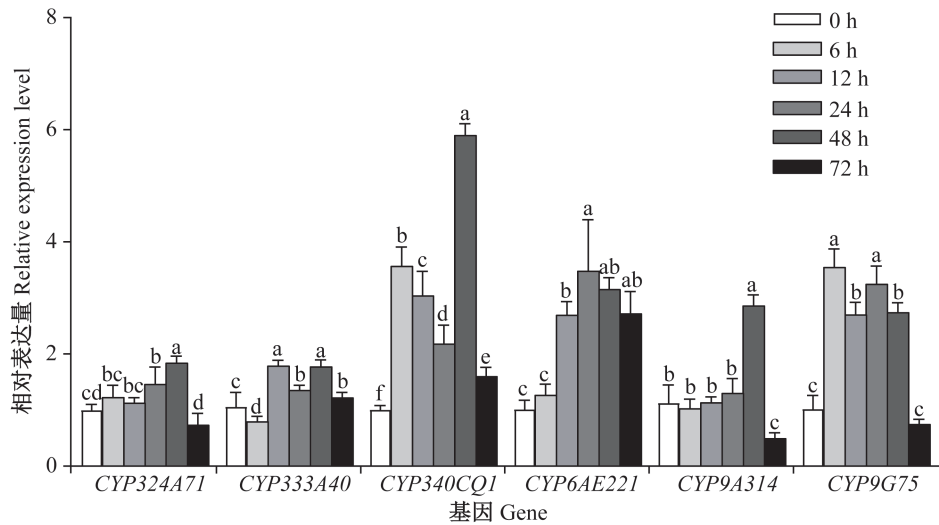


图3 α -茄碱不同处理时间对马铃薯块茎蛾幼虫 CYP450 基因表达的影响

Fig. 3 Effects of different treatment times of α -solanine on CYP450 gene expression in *Phthorimaea operculella* larvae

图中数据为平均数 \pm 标准差。不同小写字母表示同一个基因不同处理时间之间经 Duncan 氏新复极差法检验差异显著 ($P < 0.05$)。Data are mean \pm SD. Different lowercase letters indicate significant difference among different treatment times for the same gene by Duncan's new multiple range test ($P < 0.05$).

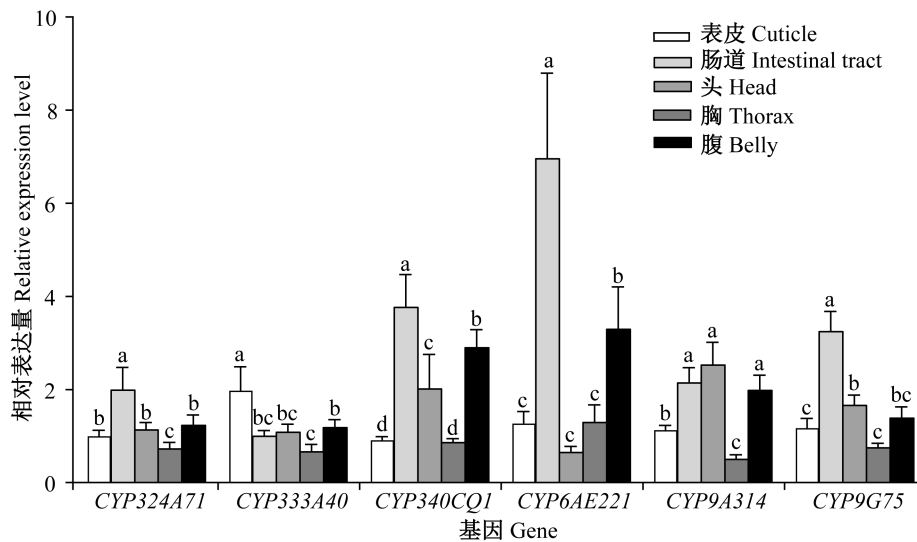


图4 α -茄碱处理后马铃薯块茎蛾幼虫不同组织中 CYP450 基因的相对表达量

Fig. 4 Relative expression levels of CYP450 genes in different tissues of *Phthorimaea operculella* larvae treated with α -solanine

图中数据为平均数 \pm 标准差。不同小写字母表示同一个基因不同组织之间经 Duncan 氏新复极差法检验差异显著 ($P < 0.05$)。Data are mean \pm SD. Different lowercase letters indicate significant difference among different tissues for the same gene by Duncan's new multiple range test ($P < 0.05$).

2.4.2 CYP450基因的沉默效率

饲喂 dsCYP340CQ1 和 dsCYP6AE221 24、48 和 72 h 后,马铃薯块茎蛾幼虫体内 CYP340CQ1 和 CYP6AE221 的相对表达量均极显著低于对照 ($P < 0.01$),且饲喂 48 h 后,马铃薯块茎蛾幼虫体内 CYP340CQ1 和 CYP6AE221 的相对表达量均最低;而饲喂 96 h 后,CYP340CQ1 和 CYP6AE221 的相对表达量回升,均与对照差异不显著(图6),表明马铃

薯块茎蛾3龄幼虫体内 dsCYP340CQ1 和 dsCYP6AE221 在处理 48 h 时的沉默效率最佳,72 h 之内均能有效沉默候选基因,可用于基因功能验证(图6)。

2.4.3 干扰 CYP450 基因对马铃薯块茎蛾幼虫的影响

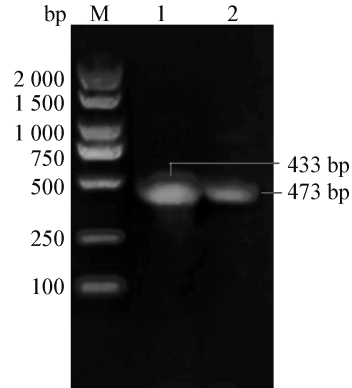
干扰 CYP340CQ1 和 CYP6AE221 基因后,饲喂丙酮溶液的马铃薯块茎蛾幼虫的存活率、体重和 3~4 龄幼虫期均与 dsEGFP 处理无显著差异(表3),表明干扰 CYP450 基因对马铃薯块茎蛾的存活率、体

重和3~4龄幼虫期无影响;干扰 *CYP340CQ1* 和 *CYP6AE221* 基因后,饲喂含有 α -茄碱饲料的马铃薯块茎蛾幼虫的存活率分别为75.6%和83.3%,体重分别为7.32 mg和8.80 mg,均显著低于 *dsEGFP* 处理 ($P < 0.05$,表3)。此外,干扰 *CYP340CQ1* 基因后,饲喂 α -茄碱饲料的马铃薯块茎蛾幼虫的3~4龄幼虫期与 *dsEGFP* 处理无显著变化,而干扰 *CYP6AE221* 基因后,饲喂 α -茄碱饲料的马铃薯块茎蛾幼虫的3~4龄幼虫期较 *dsEGFP* 处理显著延长 ($P < 0.05$,表3)。

3 讨论

马铃薯块茎蛾作为马铃薯上的重要害虫,在全球范围内对马铃薯造成严重性的危害,目前已成为影响马铃薯产业发展的重要因素(杜霞等,2021)。目前,全球范围内主要依赖化学农药来防控马铃薯块茎蛾。然而,化学农药在减轻马铃薯地上部分受害的效果明显,但在降低储藏期薯块受害的效果不

佳,且不当使用会引发严重的食品安全问题。此外,由于农药的大量使用,马铃薯块茎蛾已出现抗药性问题(徐进等,2019)。因此,寻找新的马铃薯块茎蛾防治方法具有重要意义。



M: Marker; 1: *dsCYP6AE221*; 2: *dsCYP340CQ1*.

图5 dsRNA 电泳图

Fig. 5 Electrophoresis map of dsRNA

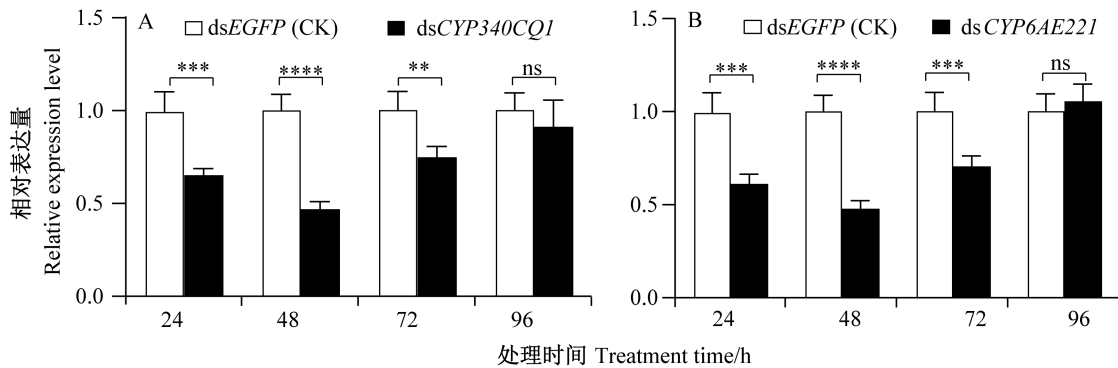


图6 dsRNA 介导的候选基因沉默效率检测

Fig. 6 Suppression of two candidate genes in *Phthorimaea operculella* larvae fed with dsRNA

图中数据为平均数±标准差。ns 表示差异不显著。**、***和****表示经 *t* 检验法检验差异显著 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$ 或 $P < 0.0001$)。Data are mean±SD. ns indicates no significant difference. **, *** or **** indicates significant difference by *t* test ($P < 0.01$ or $P < 0.001$ or $P < 0.0001$).

表3 干扰 *CYP450* 基因对马铃薯块茎蛾幼虫生命学参数的影响

Table 3 Effects of RNA interference with *CYP450* genes on biological parameters of *Phthorimaea operculella* larvae

RNA 干扰 RNA interference	存活率 Survival rate/%		体重 Body weight/mg		3~4 龄幼虫期 3rd to 4th instar larval stage/d	
	饲喂丙酮溶液 Feeding acetone solution (CK)	饲喂 α -茄碱 Feeding α -solanine	饲喂丙酮溶液 Feeding acetone solution (CK)	饲喂 α -茄碱 Feeding α -solanine	饲喂丙酮溶液 Feeding acetone solution (CK)	饲喂 α -茄碱 Feeding α -solanine
	<i>dsEGFP</i>	96.7±3.0 a	93.3±3.0 a	8.87±0.37 a	8.78±0.44 a	8.33±0.49 b
<i>dsCYP340CQ1</i>	95.6±5.0 a	75.6±4.0 b	8.81±0.40 a	7.32±0.59 c	8.40±0.51 b	8.80±0.77 ab
<i>dsCYP6AE221</i>	93.3±3.0 a	83.3±3.0 b	8.78±0.38 a	8.08±0.78 b	8.47±0.52 b	9.07±0.70 a

表中数据为平均数±标准差。同列不同小写字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验差异显著 ($P < 0.05$)。Data are mean±SD. Different lowercase letters in the same column indicate significant difference by Duncan's new multiple range test ($P < 0.05$).

昆虫解毒酶在植物次生代谢产物解毒中发挥着重要作用,相关研究已有广泛报道。例如,喂食含生

物碱饲料后,黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 的 CYP450 酶活性显著升高(Frank & Fogleman, 1992)。高剂量的橙花叔醇、齐墩果酸和甜菜碱长时间处理后,莲草直胸跳甲体内 *Agasicles hygrophila* 的 GST 活性被抑制(杨永昌等, 2018)。芦丁、单宁酸、烟碱和苦参碱处理后亚洲小车蝗 *Oedaleus asiaticus* 3 龄蝗蝻体内 CYP450、GST 和 CarE 三种关键解毒酶活性均显著升高(黄训兵等, 2021)。1-脱氧野尻霉素能诱导美国白蛾 *Hyphantria cunea* 5 龄幼虫中肠内 CYP450、GST、ATP 结合盒转运蛋白 3 种解毒酶的活性增加(莫夏娜等, 2022)。草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 的 CYP450 可以代谢吡啶、槲皮素和花椒毒素等植物次生物质(Giraud et al., 2015)。大多数特异性表达的 CYP450 来自 CYP3 和 CYP4 家族,它们主要参与外源环境中植物毒素和有毒物质的代谢(王柄权等, 2022)。本研究发现马铃薯块茎蛾取食含亚致死浓度 α -茄碱饲料后,幼虫的体长和头壳宽变小,体重减少,3~4 龄幼虫期及蛹期延长,蛹重减轻,说明 α -茄碱对马铃薯块茎蛾的生物学参数有较大影响。 α -茄碱可使马铃薯块茎蛾体内 CYP450 酶和 GST 活性增加,并抑制 AChE 与 CarE 的活性,表明 CYP450 酶和 GST 可能参与了马铃薯块茎蛾对 α -茄碱的解毒代谢过程。本研究发现马铃薯块茎蛾中 α -茄碱代谢相关的 6 个 CYP450 基因大部分来自 CYP3 和 CYP4 家族,大部分在肠道中表达量最高,且随着 α -茄碱浓度的升高呈现先上升后下降的趋势,随着 α -茄碱胁迫时间的推移,总体趋势为先上升后下降,表明这些 CYP450 基因在马铃薯块茎蛾对 α -茄碱的代谢解毒中可能发挥着重要作用。

RNA 干扰是一种通过将双链 RNA(dsRNA)导入昆虫体内来降低靶标基因表达量的技术,已被广泛用于昆虫基因功能的研究。前期已有研究报道,干扰 CYP450 基因会显著影响昆虫的生长发育。例如,在斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 5 龄幼虫中沉默 CYP6AB14 基因后,当幼虫取食添加花椒毒素、黄酮和香豆素的人工饲料 2 d 后,死亡率显著高于对照组,表明 CYP6AB14 基因可能参与对这些次生物质的代谢(Wang et al., 2015)。香豆素、黄嘌呤毒素和番茄素引起斜纹夜蛾中 CYP6AB60 基因过量表达,通过 dsCYP6AB60 处理成功抑制了 CYP6AB60 在斜纹夜蛾幼虫体内的表达,再经上述 3 种次生物质处理后,幼虫体重下降,适应性降低(Sun et al., 2019)。此外,沉默棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 体内 CYP4L11 和 CYP6AB9 基因后,再饲喂含有棉酚的饲

料 2 d 后幼虫体重增加受到抑制(靳明辉, 2018)。沉默舞毒蛾 *Lymantria dispar* 幼虫体内 CYP6AB37 和 CYP9A54v1 基因后再饲喂水杨苷,幼虫体重降低;舞毒蛾幼虫 CYP3332A6 基因被沉默后,对芦丁的敏感性增加,幼虫体重下降(王振越, 2020)。除了 CYP450 基因,关于其他解毒酶参与次生物质代谢过程的也有研究。如沉默棉铃虫中 CCE001a 基因后,再饲喂含有棉酚的饲料 2 d 后,幼虫体重增加受到抑制(靳明辉, 2018)。分别沉默褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 体内 GSTd1 和 GSTe1 基因后再喂食芦竹碱和阿魏酸,褐飞虱若虫的死亡率显著增加(杨军, 2017)。沉默舞毒蛾幼虫 GSTe1 基因后,再饲喂水杨苷和芦丁,幼虫体重降低(王振越, 2020)。本研究对 CYP340CQ1 和 CYP6AE221 基因进行 RNA 干扰试验,并观察进行 RNA 干扰之后马铃薯块茎蛾的生长发育情况,结果显示马铃薯块茎蛾 3 龄幼虫饲喂 dsRNA 72 h 内能有效沉默靶标基因,可用于基因功能验证。本研究发现干扰 CYP340CQ1 和 CYP6AE221 基因对马铃薯块茎蛾的存活率和幼虫体重有一定影响,干扰 CYP6AE221 基因对马铃薯块茎蛾幼虫的龄期有影响,进一步说明 CYP450 基因在马铃薯块茎蛾对 α -茄碱解毒中发挥着重要作用。

本研究主要探究了 CYP450 基因对 α -茄碱的代谢,其他几种主要解毒酶基因对 α -茄碱的代谢还有待研究。为更好地排除烟草中次生代谢产物对马铃薯块茎蛾的影响,后续试验可参考高玉林等(2023)方法制备人工饲料。此外,关于对候选基因进行 RNA 干扰之后,马铃薯块茎蛾的生长发育指标还可以通过改进 RNA 干扰方法、延长候选基因被沉默的时间、增强沉默效果等实现在较长时间内观察马铃薯块茎蛾生长发育情况的变化,进而构建生命表参数,探究候选基因沉默之后对马铃薯块茎蛾子代生长发育的影响。同时,随着基因组测序工作的完成(Zhang et al., 2022),马铃薯块茎蛾基因功能的研究会更深入,越来越多的手段将用于马铃薯块茎蛾解毒酶基因的功能研究中,为解析马铃薯块茎蛾对 α -茄碱的代谢解毒机制提供依据。

参 考 文 献 (References)

- Amruthraj NJ, Preetam Raj JP, Paulraj MG, Lebel LA. 2014. Report on micro moth *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae) infestation in *Capsicum chinense* Bhut Jolokia fruit. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 7(8): 41-45
- Arnqvist L, Dutta PC, Jonsson L, Sitbon F. 2003. Reduction of chole-

- terol and glycoalkaloid levels in transgenic potato plants by over-expression of a type 1 sterol methyltransferase cDNA. *Plant Physiology*, 131(4): 1792–1799
- Büyükgüzel E, Büyükgüzel K, Erdem M, Adamski Z, Adamski Z, Marciniak P, Ziemnicki K, Ventrella E, Scranò L, Bufo SA. 2013. The influence of dietary α -solanine on the waxmoth *Galleria mellonella* L. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 83(1): 15–24
- Chen CY, 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 (in Chinese) [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]
- Chen M, Peng YL, Xiong XY, Wang WX, Qin YZ, Hu XX. 2020. Research progress on potato steroidal glycoalkaloids. *China Vegetables*, (2): 13–19 (in Chinese) [陈铭, 彭亚丽, 熊兴耀, 王万兴, 秦玉芝, 胡新喜. 2020. 马铃薯糖苷生物碱研究进展. *中国蔬菜*, (2): 13–19]
- Chen W, He J, Wang B, Wang XJ, Luo TZ, Liu JJ. 2018. Effect of potato glycoalkaloids on induced resistance of *Fusarium* fruit rot on *Lycium barbarum* and activities of related defense enzymes. *Journal of Plant Protection*, 45(5): 1129–1136 (in Chinese) [陈伟, 何静, 王斌, 王秀娟, 罗天泽, 刘姣姣. 2018. 马铃薯糖苷生物碱对枸杞镰孢菌果腐病的诱导抗性及相关防御酶活性的影响. *植物保护学报*, 45(5): 1129–1136]
- Du X, Liu X, Zhou WW, Yang YL, Hu XQ, Gao YL. 2021. The research progress and prospect of biological control of potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller). *Chinese Journal of Biological Control*, 37(1): 60–69 (in Chinese) [杜霞, 刘霞, 周文武, 杨艳丽, 胡先奇, 高玉林. 2021. 马铃薯块茎蛾生物防治研究进展与展望. *中国生物防治学报*, 37(1): 60–69]
- Fragoyiannis DA, McKinlay RG, D'Mello JPF. 2001. Interactions of aphid herbivory and nitrogen availability on the total foliar glycoalkaloid content of potato plants. *Journal of Chemical Ecology*, 27(9): 1749–1762
- Frank MR, Fogleman JC. 1992. Involvement of cytochrome P450 in host-plant utilization by Sonoran Desert *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(24): 11998–12002
- Friedman M. 2004. Analysis of biologically active compounds in potatoes (*Solanum tuberosum*), tomatoes (*Lycopersicon esculentum*), and jimson weed (*Datura stramonium*) seeds. *Journal of Chromatography*, 1054(1/2): 143–155
- Gao YL, Liu XL, Yan JJ, Zhu J, Li SH, Zhang MD, Mei XD. 2023. A type of artificial feed for *Phthorimaea operculella* larvae and its preparation method: CN 117223804A. 2023-12-15 (in Chinese) [高玉林, 刘晓娟, 闫俊杰, 朱江, 李素华, 张梦迪, 梅向东. 2023. 一种马铃薯块茎蛾幼虫人工饲料及其制备方法: CN 117223804A. 2023-12-15]
- Giraud M, Hilliou F, Fricaux T, Audant P, Feyereisen R, Le Goff G. 2015. Cytochrome P450s from the fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*): responses to plant allelochemicals and pesticides. *Insect Molecular Biology*, 24(1): 115–128
- Huang HP, Guo HC, Wang Q, Shen CZ, Zhou C. 2011. Determination of the content of solanine in potato tuber in Yunnan. *Scientia Agricultura Sinica*, 44(7): 1512–1518 (in Chinese) [黄红苹, 郭华春, 王琼, 沈词专, 周晨. 2011. 云南马铃薯品种(系)块茎中的龙葵素含量测定. *中国农业科学*, 44(7): 1512–1518]
- 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 (in Chinese) [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 MH. 2018. The mechanism of gossypol metabolism in *Helicoverpa armigera*. PhD thesis. Chongqing: Southwest University (in Chinese) [靳明辉. 2018. 棉铃虫对棉酚的代谢机制研究. 博士学位论文. 重庆: 西南大学]
- Li HC, Chu DD, Han XY, Yuan GH, Miao XX, Guan RB. 2023. Sequence analysis and RNAi of carboxylesterase gene *HaCarE* in cotton bollworm *Helicoverpa armigera*. *Journal of Plant Protection*, 50(3): 602–609 (in Chinese) [李海超, 楚冬冬, 韩心怡, 原国辉, 苗雪霞, 关若冰. 2023. 棉铃虫羧酸酯酶基因 *HaCarE* 序列分析及其RNAi效应. *植物保护学报*, 50(3): 602–609]
- 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
- Mekapogu M, Sohn HB, Kim SJ, Lee YY, Park HM, Jin YI, Hong SY, Suh JT, Kweon K, Jeong JC, et al. 2016. Effect of light quality on the expression of glycoalkaloid biosynthetic genes contributing to steroidal glycoalkaloid accumulation in potato. *American Journal of Potato Research*, 93(3): 264–277
- Mo XN, Pan ZY, Chen M. 2022. Effects of 1-deoxynojirimycin on the growth and development and detoxification enzyme activities in fall webworm *Hyphantria cunea* (Lepidoptera: Arctiidae). *Journal of Plant Protection*, 49(6): 1742–1749 (in Chinese) [莫夏娜, 潘忠玉, 陈敏. 2022. 1-脱氧野尻霉素对美国白蛾生长发育和解毒酶活性的影响. *植物保护学报*, 49(6): 1742–1749]
- Nenaah G. 2011. Individual and synergistic toxicity of solanaceous glycoalkaloids against two coleopteran stored-product insects. *Journal of Pest Science*, 84(1): 77–86
- Rondon SI. 2010. The potato tuberworm: a literature review of its biology, ecology, and control. *American Journal of Potato Research*, 87(2): 149–166
- Rondon SI. 2020. Decoding *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae) in the new age of change. *Journal of Integrative Agriculture*, 19(2): 316–324
- Ruprich J, Rehurkova I, Boon PE, Svensson K, Moussavian S, Van der Voet H, Bosgra S, Van Klaveren JD, Busk L. 2009. Probabilistic modelling of exposure doses and implications for health risk characterization: glycoalkaloids from potatoes. *Food and Chemical Toxicology*, 47(12): 2899–2905

- Schuler MA. 2011. P450s in plant-insect interactions. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1814(1): 36–45
- Shen CH, Peng LJ, Zhang YX, Zeng HR, Yu HF, Jin L, Li GQ. 2022. Reference genes for expression analyses by qRT-PCR in *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Insects*, 13(2): 140
- Sun ZX, Shi Q, Li QL, Wang RM, Xu CC, Wang HH, Ran CX, Song YY, 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
- Tingey WM. 1984. Glycoalkaloids as pest resistance factors. *American Potato Journal*, 61(3): 157–167
- 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 (in Chinese) [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 RL, Xia QQ, Baerson SR, Ren Y, Wang J, Su YJ, Zheng SC, Zeng RS. 2015. 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 WQ, Xiao GL, Du GZ, Chang LS, Yang Y, Ye J, Chen B. 2022. *Glutamicibacter halophytocola*-mediated host fitness of potato tuber moth on Solanaceae crops. *Pest Management Science*, 78(9): 3920–3930
- Wang WQ, Zheng YQ, Chen B, Phangthavong S, Xiao GL. 2020. Effects of different host plants on the growth, development and fecundity of potato tuber moth *Phthorimaea operculella* based on the age-stage two-sex life table. *Journal of Plant Protection*, 47(3): 488–496 (in Chinese) [王文倩, 郑亚强, 陈斌, Phangthavong S, 肖美丽. 2020. 基于年龄-阶段两性生命表的不同寄主对马铃薯块茎蛾生长发育和繁殖力的影响. *植物保护学报*, 47(3): 488–496]
- Wang ZY. 2020. Effects of poplar secondary metabolites on performance and key detoxifying enzymatic activity of *Lymantria dispar*. Master thesis. Harbin: Northeast Forestry University (in Chinese) [王振越. 2020. 杨树主要次生物质对舞毒蛾生长发育及主要解毒酶影响. 硕士学位论文. 哈尔滨: 东北林业大学]
- Winde I, Wittstock U. 2011. Insect herbivore counteradaptations to the plant glucosinolate-myrosinase system. *Phytochemistry*, 72(13): 1566–1575
- Xu J, Zhu JH, Yang YL, Tang H, Lü HP, Fan MS, Shi Y, Dong DF, Wang GJ, Wang WX, et al. 2019. Status of major diseases and insect pests of potato and pesticide usage in China. *Scientia Agricultura Sinica*, 52(16): 2800–2808 (in Chinese) [徐进, 朱杰华, 杨艳丽, 汤浩, 吕和平, 樊明寿, 石瑛, 董道峰, 王贵江, 王万兴, 等. 2019. 中国马铃薯病虫害发生情况与农药使用现状. *中国农业科学*, 52(16): 2800–2808]
- Yan H, Dong WB, Wang YQ, Ning HH, Gao YL, Li F, Wu SY. 2023. Transcriptomic analyses revealed detoxification genes responsive to solanine treatment in *Phthorimaea operculella*. *Journal of Applied Entomology*, 147(7): 542–558
- Yang J. 2017. Interaction of detoxification enzyme genes in brown planthopper (*Nilaparvata lugens*) with gramine and ferulic acid in rice, and their potential application. PhD thesis. Beijing: China Agricultural University (in Chinese) [杨军. 2017. 稻褐飞虱解毒酶基因与水稻芦竹碱和阿魏酸互作及其潜在应用. 博士学位论文. 北京: 中国农业大学]
- Yang YC, Chai YP, Ma RY, Li X, Guo YQ, Gao LL. 2018. Effects of secondary metabolites of alligator weed *Alternanthera philoxeroides* on the enzyme activity of amylases and glutathione S-transferases in the adults of alligator weed flea beetle *Agasicles hygrophila*. *Journal of Plant Protection*, 45(4): 739–744 (in Chinese) [杨永昌, 柴艳萍, 马瑞燕, 李鑫, 郭艳琼, 高玲玲. 2018. 喜旱莲子草次生代谢物对莲草直胸跳甲谷胱甘肽S-转移酶和淀粉酶活性的影响. *植物保护学报*, 45(4): 739–744]
- Yuan HG, Wu SY, Lei ZR, Rondon SI, Gao YL. 2018. Sub-lethal effects of *Beauveria bassiana* (Balsamo) on field populations of the potato tuberworm *Phthorimaea operculella* Zeller in China. *Journal of Integrative Agriculture*, 17(4): 911–918
- Zeng FK. 2022. Structural characteristics and biosynthesis, toxicity, and effects of processing on content of potato glycoalkaloids. *Chinese Potato Journal*, 36(2): 155–164 (in Chinese) [曾凡逵. 2022. 马铃薯糖苷生物碱的结构特征、生物合成、毒性及加工对其含量的影响. *中国马铃薯*, 36(2): 155–164]
- Zhang MD, Cheng XY, Lin RM, Xie BY, Nauen R, Rondon SI, Zavala JA, Palli SR, Li SH, Xiong XY, et al. 2022. Chromosomal-level genome assembly of potato tuberworm, *Phthorimaea operculella*: a pest of solanaceous crops. *Scientific Data*, 9(1): 748
- Zhang YE, Ma HJ, Feng DD, Lai XF, Chen ZM, Xu MY, Yu QY, Zhang Z. 2012. Induction of detoxification enzymes by quercetin in the silkworm. *Journal of Economic Entomology*, 105(3): 1034–1042

(责任编辑:张俊芳)