

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2021.01.005

基于转录组的葡萄花翅小卷蛾 三类解毒酶基因家族分析

白皎洋, 赵俊凝, 王 康, 陈茂华*

西北农林科技大学植物保护学院/旱区作物逆境生物学国家重点实验室/
农业农村部西北黄土高原作物有害生物综合治理重点实验室, 陕西 杨凌 712100

摘要:【目的】葡萄花翅小卷蛾是我国重要的检疫性害虫,一旦入侵我国,将会对我国葡萄产业和林果业生产造成严重损失,国外主要使用化学农药防治该虫。开展葡萄花翅小卷蛾转录组测序及体内细胞色素P450 单加氧酶(cytochrome P450 monooxygenase, CYP)、羧酸酯酶(carboxylesterase, CarE)和谷胱甘肽S-转移酶(glutathione S-transferase, GST)三大解毒系的表达谱分析,可为葡萄花翅小卷蛾抗药性监测与抗药性治理研究提供依据。【方法】本研究利用 BGISEQ-500 平台对葡萄花翅小卷蛾进行转录组测序,通过从头组装获得 unigene。【结果】经数据组装并去冗余后共获得 44360 条 unigene;通过与多个公共数据库进行同源比对,共注释了 28065 条 unigene,通过 Nr 数据库注释的 unigene 数量最多(26388 条, 59.49%),显示与棉铃虫的 unigene 同源性最高(24.11%)。基于基因序列分析表明,葡萄花翅小卷蛾有 91 条 P450 基因、31 条 CarE 基因和 22 条 GST 基因。系统发育分析发现,葡萄花翅小卷蛾的 P450 基因主要集中在 clade 3 和 clade 4 2 个分支,与鳞翅目近源种的 CYP 基因聚集在一起;CarE 主要包括外源化合物解毒相关的酯酶及脂质转运和代谢酯酶;GST 基因聚类主要包含 Delta、Omega、Epsilon、Theta 和 Microsomal 等亚家族。【结论】本研究获得葡萄花翅小卷蛾转录组信息,鉴定了与葡萄花翅小卷蛾代谢抗性相关的基因,可为葡萄花翅小卷蛾杀虫剂和寄主植物的适应性机制研究提供数据和参考。

关键词: 葡萄花翅小卷蛾; 转录组; 细胞色素 P450; 羧酸酯酶; 谷胱甘肽 S-转移酶



开放科学标识码
(OSID 码)

Transcriptomic analysis of three detoxification enzyme families in grape fruit borer

BAI Jiaoyang, ZHAO Junning, WANG Kang, CHEN Maohua*

College of Plant Protection, Northwest A&F University/State Key Laboratory of Crop Stress Biology for Arid Areas/
Key Laboratory of Integrated Pest Management on Crops in Northwestern Loess Plateau, Ministry of
Agriculture and Rural Affairs, Yangling, Shaanxi 712100, China

Abstract: 【Aim】 The grape fruit borer has been listed in the group of most dangerous quarantine species in China. If it invades to China, serious losses to fruit industry will be caused. Chemical control is the major approach for controlling this pest in different countries. Identification of the gene sequences of Cytochrome P450 monooxygenase (P450), carboxylesterase (CarE) and glutathione S-transferase (GST) can provide knowledge for function analyses as well as insecticide resistance monitoring and management of the species. 【Method】 In this study, the BGISEQ-500 platform was used for the transcriptome sequencing of adult moths. 【Result】 A total of 44360 unigenes were obtained after data assembly and de-redundancy, and 28065 unigenes were annotated by homologous alignment with sequences in multiple public databases. Most of the unigenes (26388, 59.49%) were annotated in the Nr database. Unigenes of the moth showed the highest homology (24.11%) with genes of *Helicoverpa armigera*. Based on sequence analyses, we identified 91 P450 genes, 31 CarE genes and 22 GST genes. Phylogenetic analysis indicated that the P450 genes of the moth were mainly included in the clade 3 and clade 4 and were clustered with CYP genes from other lepidopteran species. The CarE genes acquired are mainly involved in the detoxification of exogenous compounds and in lipid metabolism. The GST genes of the species were

收稿日期(Received): 2020-09-09 接受日期(Accepted): 2020-11-25

基金项目: 国家重点研发计划(2017YFC1200600)

作者简介: 白皎洋, 女, 硕士研究生。研究方向: 害虫抗药性。E-mail: bjy123644@163.com

* 通信作者(Author for correspondence), E-mail: maohua.chen@nwsuaf.edu.cn

included into Delta, Omega, Epsilon, Theta and Microsomal subfamilies of the GST gene family. 【Conclusion】 This study provides transcriptome information of grape fruit borer and the gene sequences of P450, GST and CarE, which is important for further research of the insecticide resistance and host plant adaptation of the pest.

Key words: grape fruit borer; transcriptome; cytochrome P450 monooxygenase; carboxylesterase; glutathione S-transferase

葡萄花翅小卷蛾是影响世界葡萄产量和质量的一种重要经济害虫,2012 年国家检验检疫中心将其列入检疫性有害生物名录(牛春敬等,2013)。该虫原产于意大利,后在地中海和欧洲地区迅速蔓延,现已扩散至美洲阿根廷、智利、加利福尼亚等地区(Gilligan *et al.*, 2011)。目前,我国尚未出现该虫入侵的相关报道(李俊峰等,2017)。

葡萄花翅小卷蛾隶属鳞翅目 Lepidoptera 卷蛾科 Tortricinae,其幼虫可取食多种经济作物的花和果实,寄主包括葡萄 *Vitis vinifera* L.、油橄榄 *Olea europaea* L.、迷迭香 *Rosmarinus officinalis* L.、铁线莲 *Clematis vitalba* L.、山茱萸 *Cornus* spp.、忍冬 *Lonicera xylosteum* L.、女贞 *Ligustrum vulgare* L.等在内的 40 多种植物(Iroiatti *et al.*, 2011),对不同寄主植物营养物质和次生代谢物具有广泛适应性。目前葡萄花翅小卷蛾的控制主要依赖化学农药(Akyol & Aslan, 2010; Ifoulis & Savopoulou, 2004),而杀虫剂的长期使用导致该虫对有机磷、氨基甲酸酯、拟除虫菊酯等多种杀虫剂产生了抗药性,造成该虫防治困难(苏莎等,2020; Pasquini *et al.*, 2018)。

当昆虫遭遇植物防御性次生代谢物和农药等有毒外源化合物刺激时,其体内的解毒酶会发生一系列变化,从而协助昆虫消除这些化合物对其生长发育的不利影响(陈澄宇等, 2015; 段辛乐等, 2015; 吴有刚等, 2019)。Hatipoglu *et al.* (2015) 研究发现,采自土耳其的葡萄花翅小卷蛾产生抗药性时,抗性品系与敏感品系虫体内的解毒酶表达量存在差异。Navarro-Roldán *et al.* (2020) 的研究也证实了不同性别葡萄花翅小卷蛾种群体内解毒酶活性不同。昆虫的解毒酶基因家族主要包括细胞色素 P450 (Cytochrome P450s, P450s)、羧酸酯酶 (Carboxylesterases, CarE) 和谷胱甘肽 S-转移酶 (Glutathione S-transferase, GSTs) 三大酶系。不同解毒酶对杀虫剂的代谢方式不同:CarE 可使有机物的酯键发生断裂,达到解毒效果;GST 能促使体内各种有毒物质以非酶方式排出体外。抗药性相关的 P450 基因主要为 *CYP4* 和 *CYP6* 家族的成员(张红英等, 2002),这些基因在昆虫抗性种群中表达水平显著

上升。一般来说,三大解毒酶可通过高表达、基因扩增或基因突变等方式提高昆虫对杀虫剂的抗性。

迄今为止,对葡萄花翅小卷蛾抗性的研究主要集中在比较其对不同杀虫剂的抗性水平,而对抗药性的分子机制知之甚少(Navarro-Roldán *et al.*, 2020),解毒酶相关的研究对该虫的抗药性监测和抗药性治理具有重要的意义。

本研究对葡萄花翅小卷蛾的转录组进行测序,并通过注释信息获取解毒酶基因,与棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Hübner) 和苹果蠹蛾 *Cydia pomonella* L.等鳞翅目昆虫的同源基因对比,进行系统发育树分析,探究三大解毒酶家族基因的分类和进化特点,挖掘该虫的解毒酶基因序列,为进一步研究葡萄花翅小卷蛾对杀虫剂和寄主植物的适应性机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 RNA 样本

葡萄花翅小卷蛾样本由阿根廷门多萨省农业卫生与质量研究所 Gustavo Taret 先生提供,成虫样本保存于 RNA 保存液中;RNA 的提取参照 Direct-zol RNA Miniprep 试剂盒(Zymo research, Irvine, CA)说明书,DNase I 处理去除 DNA 残留。利用 Nano Photometer 测定仪和凝胶电泳检测 RNA 浓度和质量。

1.2 转录组测序、组装及功能注释

将满足测序要求的高质量葡萄花翅小卷蛾总 RNA 送至深圳华大基因科技有限公司,通过 BGISEQ-500 测序平台进行转录组测序获得原始数据;使用 trimmomatic 进行过滤(去除包含接头、未知碱基含量>5%和低质量的 reads);利用 Trinity 对 clean reads 进行 de novo 组装,然后使用 Tgic1 对组装的转录本进行聚类去冗余,获得 unigene;通过 Blast 将组装得到的 unigene 进行七大功能数据库 Nr(non-redundant proteins reference sequences)、Nt(nucleotide sequence database)、KEGG(kyoto encyclopedia of genes and genomes)、Swiss-Prot、GO(gene ontology)、Pfam 和 KOG 注释。

1.3 三大解毒酶基因家族的系统发育分析

以葡萄花翅小卷蛾 3 种解毒酶 (P450、CarE 和 GST) 基因的蛋白序列为基础,在 NCBI 中下载鳞翅目物种昆虫 3 种解毒酶基因的蛋白序列,使用 MEGA 7 程序中的 MUSCLE 对不同物种的 P450、GST 和 CarE 氨基酸序列进行比对 (对于 CarE 和 P450 基因,选取>1000 bp 的基因序列用于建树分析)。3 种解毒酶基因均采用 MEGA 7 软件中的 neighbor join (NJ) 方法构建系统树,Bootstrap 值设为 1000。

2 结果与分析

2.1 转录组组装

为获得葡萄花翅小卷蛾的转录组数据,利用 BGISEQ-500 技术平台对其进行 RNA 测序。测序样品数据为 6.4 Gb,经 Trinity 和 Tgic1 软件拼接共获得 44360 个 unigene,其总长度、平均长度、N50 及 GC 含量分别为 49864535、1124、2078 bp 和 42.81%,通过 BUSCO 软件评估组装结果为 95%,表明转录组的组装具有较高的完整性。

2.2 基因功能注释

将组装获得的 44360 条 unigene 与 7 个数据库进行比对。结果显示,共有 28065 条 unigene 被注释,其中通过 Nr 数据库成功注释的 unigene 数量最多,共有 26388 条,在总 unigene 数中占比 59.49% (表 1)。Unigene 注释到 Nr 数据库的物种主要为棉铃虫和柑橘卷叶蛾 *Amyelois transitella* (Walker), 分别占 24.11%和 16.94%(图 1)。此外,根据 Nr 注释结果,本研究共注释了 144 条解毒酶基因,其中包括 91 条 P450 酶系基因、22 条 GST 酶系基因和 31 条 CarE 酶系基因。

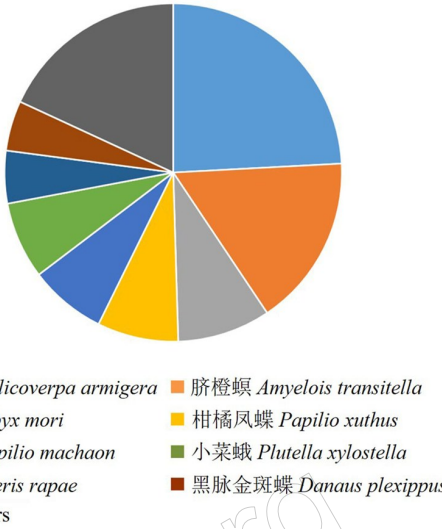


图 1 葡萄花翅小卷蛾转录组 unigene 在 Nr 数据库中的分布
Fig.1 Species distribution of grape fruit borer unigenes in Nr database

2.3 P450 注释分析及其与几种鳞翅目昆虫 P450 的进化关系

葡萄花翅小卷蛾转录组中有 91 个 CYP 基因,在解毒酶基因中所占比例最大,选取核苷酸序列长度大于 1000 bp 的 33 个 P450 基因进行发育进化分析。结果显示,33 个 P450 基因可注释到 CYP4、CYP6、CYP9 等家族,分属于 clade 2 (2 个基因)、clade 3 (17 个基因)、clade 4 (8 个基因) 和线粒体 clade (6 个基因) (图 2)。葡萄花翅小卷蛾 P450 基因均能够与鳞翅目的 P450 聚在一起,其中葡萄花翅小卷蛾 CYP4、CYP6 和 CYP9 家族基因与鳞翅目其他物种的同源数较多。

2.4 GST 注释分析及其与几种鳞翅目昆虫 GST 的进化关系

注释结果显示,在葡萄花翅小卷蛾中有 22 个 GST 基因,核苷酸序列长度在 590~1450 bp 之间。将这些 GST 基因与其他鳞翅目昆虫的同源基因进行氨基酸序列比对并构建系统发育树,结果显示,葡萄花翅小卷蛾与苹果蠹蛾、云杉芽卷蛾 *Choristoneura fumiferana* (Clem.) 和棉铃虫等昆虫的相应 GST 蛋白可聚为一类。注释的葡萄花翅小卷蛾表达的 GST 分别属于 Microsomal (3 个)、Epsilon (7 个)、Delta (5 个)、Omega (3 个)、Sigma (2 个)、Zeta (1 个) 和 Theta (1 个) 等 GST 亚家族,其中主要以 Epsilon 和 Delta 亚家族 GST 数量最多 (图 3)。

表 1 葡萄花翅小卷蛾转录组 unigene BLAST 注释结果		
Table 1 BLAST annotation result of unigenes in grape fruit borer		
注释数据库 Anonation database	转录本数量 Number of transcripts/条	占比 Percentage of transcripts/%
Nr	26388	59.49
Nt	11478	25.87
Swissprot	17564	39.59
KEGG	20630	46.51
KOG	17317	39.04
Pfam	17871	40.29
GO	5063	11.41

2.5 CarE 注释分析及其与鳞翅目近缘物种的 CarE 进化关系

羧酸酯酶又称脂族酯酶,是酯酶超基因家族中重要的一类酶,根据其功能通常可分为消化解毒酶、激素与信息素代谢酶以及神经发育相关蛋白。在葡萄花翅小卷蛾转录组中有 31 个 CarE 基因的转录本,选取基因长度大于 1000 bp 的 12 个 CarE 基因构建系统发育树,发现这些 CarE 基因根据功能大致可以分为 3 类:一类承担脂质转运和代谢;另一类参与外源化合物消化和解毒,与棉铃虫 CarE 聚为一类;还有一类是与神经发育相关的蛋白,在葡萄花翅小卷蛾中主要为乙酰胆碱酯酶(图 4)。

3 结论与讨论

葡萄花翅小卷蛾是葡萄等果树上的重要害虫,

作为重要的进境检疫性有害生物,该虫在我国尚未有入侵和发生的报道。开展葡萄花翅小卷蛾代谢酶的完整分析,对于该虫入侵风险评估以及防治措施制定具有重要意义。本研究通过对葡萄花翅小卷蛾转录组测序,发现该虫表达 144 个解毒酶基因,包含 91 个细胞色素 P450 基因、31 个 CarE 基因和 22 个 GST 基因。这些解毒酶基因与其他鳞翅目昆虫的同源基因存在较高的相似性。已有研究发现,不同鳞翅目昆虫基因组中的解毒酶基因存在许多同源基因对和基因群,存在较高的保守性(艾均文等,2015)。葡萄花翅小卷蛾与其他鳞翅目昆虫的解毒酶同源基因可能具有相似的代谢机制。

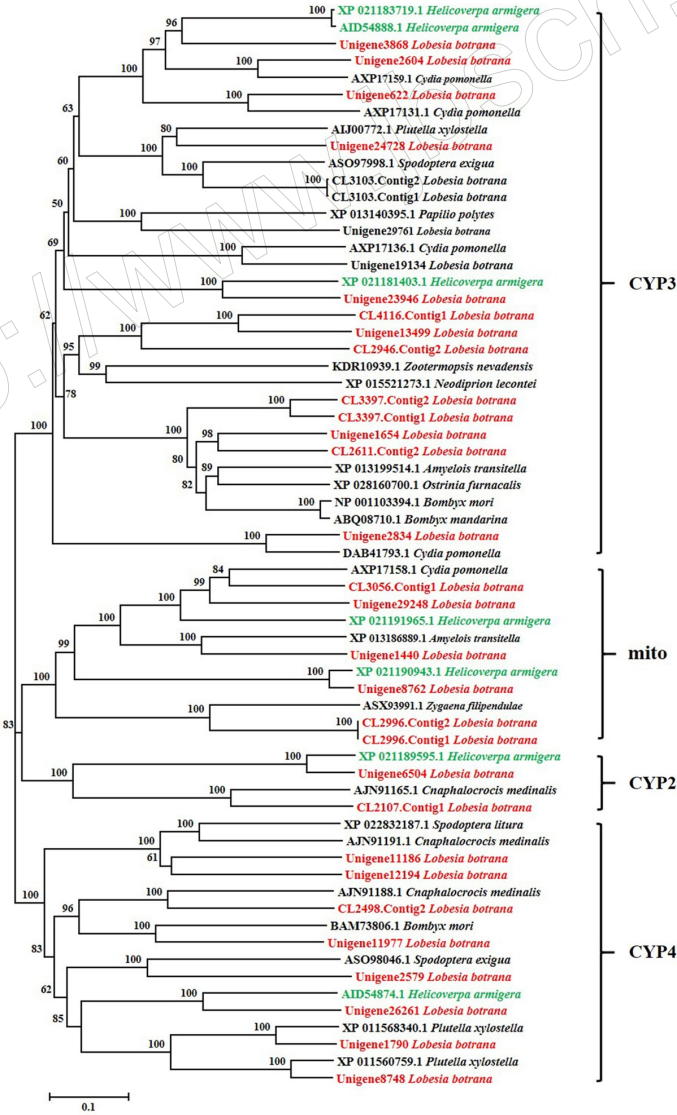


图 2 葡萄花翅小卷蛾与其几种鳞翅目昆虫 CYP 的系统发育关系
Fig.2 The phylogenetic tree of CYP gene from grape fruit borer and other insect species

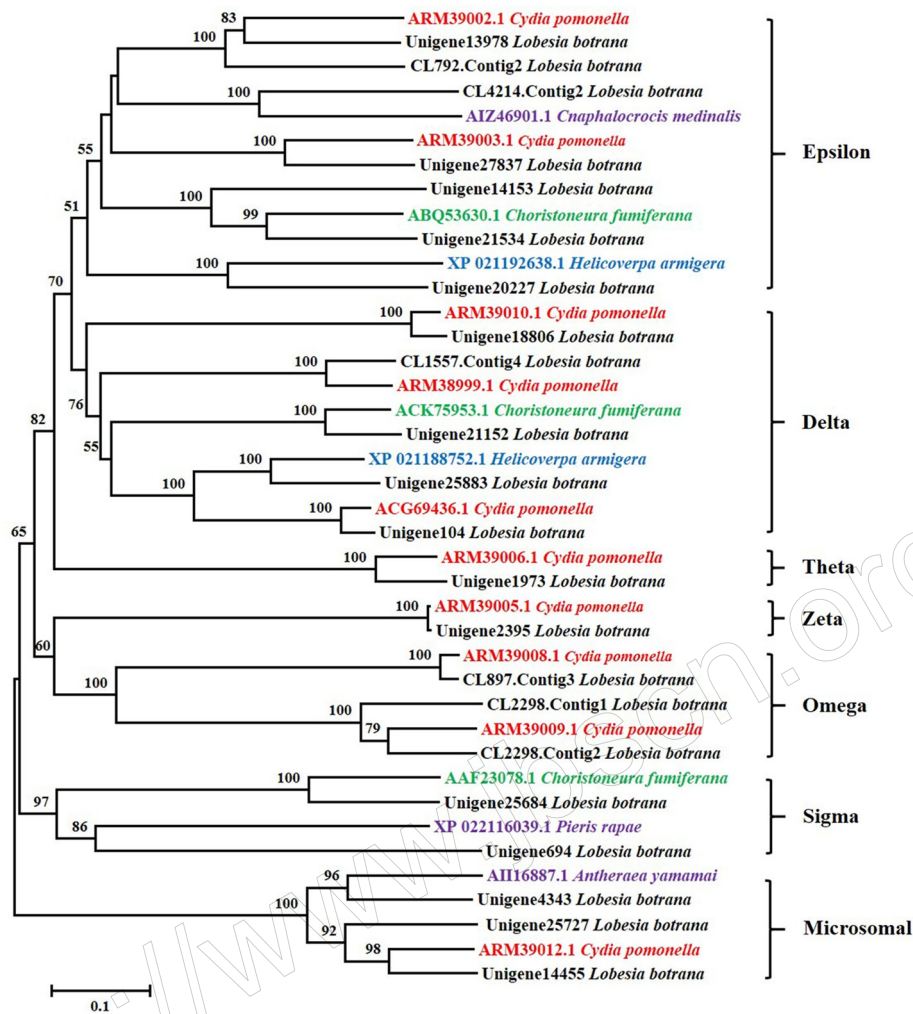


图 3 葡萄花翅小卷蛾与几种鳞翅目昆虫 GST 的系统发育关系
Fig.3 The phylogenetic tree of GST gene from grape fruit borer and other insect species

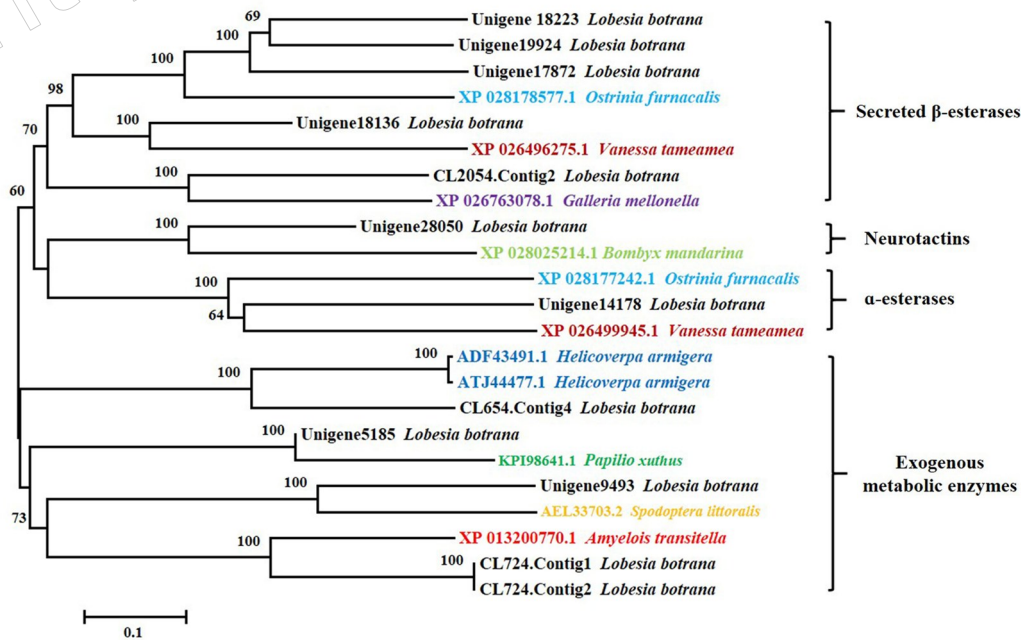


图 4 葡萄花翅小卷蛾与几种鳞翅目昆虫 CarE 的系统发育关系
Fig.4 The phylogenetic tree of CarE gene from grape fruit borer and other insect species

细胞色素 P450 是昆虫体内一类重要的解毒酶,其在生物转化、内源底物的催化以及外源物质的代谢和解毒过程中具有重要作用 (Guengerich, 2001; Li *et al.*, 2007; Feyereisen, 1999; Rewitz, 2004)。P450 通过基因转录表达变化、基因突变等多种机制影响昆虫对不同寄主适应性和杀虫剂抗性 (Bass *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2018)。葡萄花翅小卷蛾幼虫在不同寄主上的生长速度、交配成功率、繁殖力都存在差异,这可能与其体内 P450 解毒酶对植物次生代谢物质的解毒能力有关 (Denis & Jerme, 2005)。本研究发现,葡萄花翅小卷蛾的 P450 基因主要属于 CYP4 和 CYP6 家族,这 2 个家族的 P450 基因被证实与多种杀虫剂的抗性相关 (郭亭亭等, 2009; 杨帆和王进军, 2008; Kim *et al.*, 2017)。本研究组发现 1 个葡萄花翅小卷蛾的 P450 CYP6 亚家族基因和苹果蠹蛾的 CYP6B2 基因在系统树上聚为一支,而 CYP6B2 被证实在苹果蠹蛾对溴氰菊酯和谷硫磷的抗药性中具有重要作用 (Wan *et al.* 2019);而葡萄花翅小卷蛾的 1 个 CYP4 亚家族基因和小菜蛾 CYP4g15 基因聚为一支,据报道, CYP4g15 参与柑橘木虱 *Diaphorina citri* Kuwayama 对农药的代谢 (Tian *et al.*, 2019);葡萄花翅小卷蛾另外 1 个 CYP4 亚家族基因和斜纹夜蛾 *Spodoptera littura* Fabricius CYP4C1 基因聚为一支, CYP4C1 被证实在多种昆虫对植物次生代谢物质中具有重要作用 (Huang *et al.*, 2019)。

CarE 在昆虫对有机磷、氨基甲酸酯以及拟除虫菊酯等多种杀虫剂的抗性中起重要作用 (刘红霞等, 2012; 张柯等, 2002; Wang *et al.*, 2018)。CarE 基因扩增和基因突变可能介导昆虫对杀虫剂产生抗性 (Wang *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2013)。羧酸酯酶 CarE001A 和 CarE001H 在棉铃虫对拟除虫菊酯类农药的代谢中具有重要的作用 (Li *et al.*, 2020)。羧酸酯酶 *RpCarE* 基因表达量的变化介导了禾谷缢管蚜 *Rhopalosiphum padi* L. 对异丙威和高效氯氟氰菊酯 2 种农药的抗性 (Wang *et al.*, 2018)。Navarro-Roldán *et al.* (2020) 研究葡萄花翅小卷蛾对毒死蜱、高效氯氟氰菊酯和噻虫啉 3 种杀虫剂的代谢解毒机制,发现酯酶活性显著升高,羧酸酯酶活性增强可能介导该抗药性。本研究共发现 31 个 CarE 基因,这些酯酶可能参与葡萄花翅小卷蛾体内脂质转运和代谢、内源与外源化合物的消化和解

毒,其功能有待进一步研究。

GST 是昆虫体内三大解毒酶之一,可以通过促进杀虫剂的还原性脱氯化氢或与还原性谷胱甘肽发生偶联反应来代谢杀虫剂 (Enayati *et al.*, 2010)。GST 还可以清除昆虫体内杀虫剂作用过程中产生的有毒氧自由基。大量研究表明, GST 与昆虫对有机磷、有机氯、拟除虫菊酯类杀虫剂的抗性有关 (尤春燕等, 2013; Fournier *et al.*, 1992), 与抗性相关的昆虫 GST 基因分属于 Delta 和 Epsilon 2 个亚族 (Cao *et al.*, 2018; Vontas *et al.*, 2001)。此外,相关研究发现,棉铃虫 GST 可被植物次生代谢物质诱导,并对杀虫剂敏感性产生影响 (陈凤菊等, 2003; 高希武等, 1997)。本研究基于葡萄花翅小卷蛾转录组数据发现 22 个 GST 基因,其中有 12 个 GST 基因属于昆虫特有的 Delta 和 Epsilon 亚族,这 2 个亚家族的基因在昆虫对外源物质的代谢中发挥非常重要的作用 (Chen & Zhang, 2015), 本研究鉴定的葡萄花翅小卷蛾各个 GST 基因的具体功能有待进一步分析。

参考文献

- 艾均文, 龚昕, 薛宏, 2015. 不同鳞翅目昆虫细胞色素 P450 基因 (CYPs) 的比较基因组学分析. 农业生物技术学报, 23(2): 244-252.
- 陈澄宇, 康志娇, 史雪岩, 高希武, 2015. 昆虫对植物次生代谢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.
- 陈凤菊, 高希武, 雷明庆, 2003. 单宁酸对棉铃虫谷胱甘肽 S-转移酶的影响. 昆虫学报, 46(6): 684-690.
- 段辛乐, 乔宪凤, 陈茂华, 2015. 苹果蠹蛾抗药性研究进展. 生物安全学报, 24(6): 1-8.
- 郭亭亭, 姜辉, 高希武, 2009. 昆虫细胞色素 P450 基因的多样性、进化及表达调控. 昆虫学报, 52(3): 301-311.
- 高希武, 董向丽, 郑炳宗, 1997. 棉铃虫的谷胱甘肽 S-转移酶 (GSTs): 杀虫药剂和植物次生性物质的诱导与 GSTs 对杀虫药剂的代谢. 昆虫学报, 40(2): 122-127.
- 李俊峰, 阿地力·沙塔尔, 喻峰, 买合木提·尼亚孜, 2017. 世界性害虫葡萄花翅小卷蛾入侵我国的风险分析. 生物安全学报, 26(1): 52-57.
- 刘洪霞, 冷培恩, 徐仁权, 2012. 白纹伊蚊溴氰菊酯抗性和敏感品系羧酸酯酶性质比较. 应用昆虫学报, 49(2): 403-407.
- 牛春敬, 刘勇, 廖芳, 2013. 检疫性有害生物——葡萄花翅

- 小卷蛾. 检验检疫学报, 23(5): 57-59.
- 苏莎, 彭雄, 简成志, 陈茂华, 2020. 葡萄花翅小卷蛾抗药性研究进展. 生物安全学报, 3(3): 170-175.
- 吴有刚, 金京, 杨胜祥, 吴屏, 胡琴, 杜永斌, 樊建庭, 2019. 昆虫抗药性产生机制. 生物安全学报, 28(3): 159-169.
- 杨帆, 王进军, 2008. 昆虫细胞色素 P450 与抗药性关系研究进展. 四川动物, 27(3): 460-463.
- 尤燕春, 谢苗, 尤民生, 2013. 昆虫谷胱甘肽 S-转移酶的研究进展. 应用昆虫学报, 50(3): 831-840.
- 张红英, 赤国彤, 张金林, 2002. 昆虫解毒酶系与抗药性研究进展. 河北农业大学学报, 25(1): 193-195.
- 张柯, 叶镇清, 乔传令, 2002. 库蚊羧酸酯酶研究进展. 生命的化学, 22(1): 65-66.
- AKYOL B, ASLAN M M, 2010. Investigations on efficiency of mating disruption technique against the European grapevine moth (*Lobesia botrana* Den & Schiff) (Lepidoptera; Tortricidae) in vineyard, Turkey. *Journal of Animal & Veterinary Advances*, 9(4): 730-735.
- BASS C, ZIMMER C T, RIVERSON J M, WILDING C S, WOND C S, NAUEN R, 2013. Gene amplification and microsatellite polymorphism underlie a recent insect host shift. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(48): 19460-19465.
- CAO Z, HONG Y, ZHAO W, LONG G Y, JIN D C, 2008. Comparative transcriptome analysis of *Sogatella furcifera* (Horváth) exposed to different insecticides. *Scientific Reports*, 8(1): 8773.
- CHEN X E, ZHANG Y L, 2015. Identification and characterisation of multiple glutathione S-transferase genes from the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Pest Management Science*, 71(4): 592-600.
- DENIS T, JERME M, 2005. Relative performance of European grapevine moth (*Lobesia botrana*) on grapes and other hosts. *Oecologia*, 143(4): 548-557.
- ENAYATI A A, RANSON H, HEMINGWAY J, 2010. Insect glutathione transferases and insecticide resistance. *Insect Molecular Biology*, 14(1): 3-8.
- FEYEREISEN R, 1999. Insect P450 enzymes-annual review of entomology. *Cytochrome Microsomes Hormones Insecticide Metabolism Induction*, 44(1): 507-533.
- FOURNIER D, BRIDE J M, POIRIE M, BERGE J B, PLAPP F W, 1992. Insect glutathione S-transferases. Biochemical characteristics of the major forms from houseflies susceptible and resistant to insecticides. *Journal of Biological Chemistry*, 267(3): 1840.
- GILLIGAN T M, EPSTEIN M E, PASSOA S C, POWELL J A, SAGE O C, BROWN J W, 2011. Discovery of *Lobesia botrana* (Denis & Schiffmüller) in California; an invasive species new to North America (Lepidoptera: Tortricidae). *Proceedings Entomological Society of Washington*, 113(1): 14-30.
- GUENGERICH F P, 2001. Common and uncommon cytochrome P450 reactions related to metabolism and chemical toxicity. *Chemical Research in Toxicology*, 14(6): 611-650.
- HATİPOĞLU A, DURMUSOĞLU E, GUKAN M O, 2015. Determination of insecticide resistance of European grapevine moth *Lobesia botrana* (Denis & Schiffmüller) (Lepidoptera: Tortricidae) populations in vineyards of Manisa province. *Turkish Journal of Entomology*, 39(1): 55-65.
- HUANG X L, LIU D G, ZHANG R F, SHI X Q, 2019. Transcriptional responses in defense-related genes of *Sitobion avenae* (Hemiptera: Aphididae) feeding on wheat and barley. *Journal of Economic Entomology*, 112(1): 382-395.
- IFOULIS A A, SAVOPOULOU S M, 2004. Biological control of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) larvae by using different formulations of *Bacillus thuringiensis* in 11 vine cultivars under field conditions. *Journal of Economic Entomology*, 97(2): 340-343.
- IORIATTI C, ANFORA G, TASIN M, DE CRISTOFARO A, WITZGALL P, LUCCHI A, 2011. Chemical ecology and management of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of Economic Entomology*, 104(4): 1125-1137.
- KIM H S, HAN J, KIM H J, HAGIWARA A, LEE J S, 2017. Identification of 28 cytochrome p450 genes from the transcriptome of the marine rotifer *Brachionus plicatilis* and analysis of their expression. *Comparative Biochemistry & Physiology Part D Genomics & Proteomics*, 23: 1-7.
- LI X, SCHULER M A, BERENBAUM M R, 2007. Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. *Annual Review of Entomology*, 52(1): 231-253.
- LI Y Q, BAI L S, ZHAO C X, XU J J, SUN Z J, DONG Y L, LI D X, LIU X L, MA Z Q, 2020. Functional characterization of two carboxylesterase genes involved in pyrethroid detoxification in *Helicoverpa armigera*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(11): 3390-3402.
- NAVARRO-ROLDÁN M A, BOSCH D, GEMENO C, SIEWART M, 2020. Enzymatic detoxification strategies for neurotoxic insecticides in adults of three tortricid pests. *Bulletin of Entomological Research*, 110: 144-154.

- tial of brassicas I. Variation in glucosinolate profiles of diverse field-grown brassicas. *Plant and Soil*, 201(1): 71–89.
- VALMAS N, EBERT P R, FOX D, 2006. Comparative toxicity of fumigants and a phosphine synergist using a novel containment chamber for the safe generation of concentrated phosphine gas. *PLoS ONE*, 1(1): e130.
- VU L T, REN Y L, 2004. Natural levels of ethyl formate in stored grains determined using an improved method of analysis. *Journal of Stored Products Research*, 40(1): 77–85.
- REN Y L, LEE B H, WATERFORD C, LEE B H, 2005. Pesticide compositions and methods: US 8278352B2. (2012-10-02) [2020-09-30]. <https://patentimages.storage.googleapis.com/53/c4/0f/de26918280d26e/US8278352.pdf>.
- REN Y L, MAHON D, 2003. Field trials on ethyl formate for fumigation of on-farm storage// WRIGHT E J, WEBB M C, HIGHLEY E. *Stored grain in Australia 2003*. Proceedings of the Australian Postharvest Technical Conference. Canberra, CSIRO Stored Grain Research Laboratory: 210–216.
- REN Y L, MAHON D, 2006. Fumigation trials on the application of ethyl formate to wheat, split faba beans and sorghum in small metal bins. *Journal of Stored Products Research*, 42(3): 277–289.
- SANON A, GARBA M, AUGER J, HUIGNARD J, 2002. Analysis of the insecticidal activity of methylisothiocyanate on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) and its parasitoid *Dinarmus basalis* (Rondani) (Hymenoptera: Pteromalidae). *Journal of Stored Products Research*, 38(2): 129–138.
- SARWAR M, KIRKEGAARD J A, 1998. Biofumigation potential of brassicas II. Effect of environment and ontogeny on glucosinolate production and implications for screening. *Plant and Soil*, 201(1): 91–101.
- SARWAR M, KIRKEGAARD J A, WONG P T W, DESMARCHELIER J M, 1998. Biofumigation potential of brassicas III. In vitro toxicity of isothiocyanates to soil-borne fungal pathogens. *Plant and Soil*, 201(1): 103–112.

(责任编辑:郑珊珊)

(上接第 35 页)

- PASQUINI S, HAXAIRE M O, RISON J L, 2018. Susceptibility of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) to chlorantraniliprole in the Emilia Romagna Region of Northeast Italy. *Journal of Economic Entomology*, 11(1): 369–374.
- REWITZ K F, KJELLERUP C, RGENSEN A, PETERSEN C, ANDERSEN O, 2004. Identification of two *Nereis virens* (Annelida: Polychaeta) cytochromes P450 and induction by xenobiotics. *Comparative Biochemistry & Physiology Toxicology & Pharmacology Cbp*, 138(1): 89–96.
- TIAN F J, LI C F, WANG Z B, LIU J L, ZENG X N, 2019. Identification of detoxification genes in imidacloprid-resistant Asian citrus psyllid (Hemiptera: Liviidae) and their expression patterns under stress of eight insecticides. *Pest Management Science*, 75(5): 1400–1410.
- VONTAS J G, SMALL G J, HEMINGWAY J, 2001. Glutathione S-transferases as antioxidant defence agents confer pyrethroid resistance in *Nilaparvata lugens*. *Biochemical Journal*, 357: 65–72.
- WAN F H, YIN C L, TANG R, CHEN M H, WU Q, HUANG C, WALTERS J R, LI F, 2019. A chromosome-level genome assembly of *Cydia pomonella* provides insights into chemical ecology and insecticide resistance. *Nature Communications*, 10: 4237.
- WANG K, HUANG Y N, LI X Y, 2018. Functional analysis of a carboxylesterase gene associated with isoprocarb and cyhalothrin resistance in *Rhopalosiphum padi* (L.). *Frontiers in Physiology*, 9: 992.
- ZHANG Y, LI S, XU L, 2013. Overexpression of carboxylesterase-1 and mutation (F439H) of acetylcholinesterase-1 are associated with chlorpyrifos resistance in *Laodelphax striatellus*. *Pesticide Biochemistry & Physiology*, 106(1): 8–13.

(责任编辑:郭莹)