

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2024.04.013

小菜蛾 UDP-N-乙酰氨基葡萄糖焦磷酸化酶基因的克隆、表达及功能研究

李 恒, 田厚军, 林 硕, 陈艺欣, 魏 辉*, 陈 勇*

福建省农业科学院植物保护研究所, 农业部福州作物有害生物科学观测试验站, 福建 福州 350013

摘要: 【目的】克隆小菜蛾几丁质合成酶基因 *PxUAP* 并阐明其功能。【方法】基于小菜蛾基因组信息, 利用 RT-PCR 克隆小菜蛾 *PxUAP* 基因的 cDNA 序列, 并应用荧光定量 PCR 和 RNA 干扰技术分析该基因的表达模式及功能。【结果】*PxUAP* (GenBank 登录号: OR659549) 开放阅读框长度为 1467 bp, 预测编码 488 个氨基酸, 蛋白分子质量为 54.985 ku, 理论等电点为 6.12; 与金凤蝶 UAP (KPJ20218.1) 同源蛋白亲缘关系较近, 氨基酸同源性为 80.33%。发育表达谱结果表明, *PxUAP* 在小菜蛾各个发育阶段均有表达, 在雄成虫期的表达量最高; 组织表达谱结果表明, *PxUAP* 在雌成虫足和翅膀的表达量最高。RNAi 结果表明, 与注射 ds*GFP* 对照组相比, 注射 ds*PxUAP* 显著降低了靶标基因和几丁质合成酶 *PxCHSA* 基因的表达量, 且 *PxCHSB* 基因在 24 和 48 h 的表达量也显著下降; 注射 ds*PxUAP* 的小菜蛾大部分无法化蛹, 蛹壳出现皱缩等畸形现象, 并在注射后 168 h 全部死亡。【结论】*PxUAP* 是小菜蛾几丁质合成酶通路中的关键调控基因, 对小菜蛾生长发育起至关重要的作用。

关键词: 小菜蛾; RNA 干扰; 几丁质; UDP-N-乙酰氨基葡萄糖焦磷酸化酶; 表达谱



开放科学标识码
(OSID 码)

Molecular cloning, expression profiling, and functional analysis of a UDP-N-acetylglucosamine pyrophosphorylases gene from the *Plutella xylostella* (L.)

LI Heng, TIAN Houjun, LIN Shuo, CHEN Yixin, WEI Hui*, CHEN Yong*

Institute of Plant Protection, Fujian Academy of Agricultural Sciences/Fuzhou Scientific Observing and Experimental Station of Crop Pests of Ministry of Agriculture, Fuzhou, Fujian 350013, China

Abstract: 【Aim】 This study aimed to clone the chitin synthetase gene *PxUAP* and elucidate its function in *Plutella xylostella*. 【Method】 Based on the genomic information of diamondback moth, the full-length cDNA sequence of *PxUAP* was amplified using RT-PCR, and the expression pattern and function of the gene were analyzed using quantitative real-time PCR and RNA interference (RNAi). 【Result】 *PxUAP* (GenBank number: OR659549) contains an open reading frame of 1467 bp that encodes 488 amino acids with a predicted size of 54.985 ku and a theoretical isoelectric point of 6.12. Phylogenetic analysis demonstrated that the amino acid sequences of *PxUAP* and *Papilio machaon* (KPJ20218.1) UAP clustered into a single clade with 80.33% similarity. The developmental expression profile revealed that *PxUAP* was expressed at various developmental stages of *P. xylostella*, with the highest expression level in the male adult stage, and the tissue expression profile showed that the expression of *PxUAP* was highest in the legs and wings of female adults. After RNAi, the expression levels of *PxUAP* and *PxCHSA* in the ds*PxUAP* injection group were significantly downregulated compared with those in the control group (ds*GFP* injection). At 24 and 48 h after RNAi, the expression level of *PxCHSB* was also significantly lower in the ds*PxUAP* treatment than in the ds*GFP* control group. In addition, most of *P. xylostella* could not pupate and died because of pupal shell shrinkage after RNAi, and the survival rate decreased to 0 after injection of ds*PxUAP* at 168 h. 【Conclusion】 *PxUAP* is a key regulatory gene in the chitin synthase pathway of diamondback moth and plays a crucial role in the growth and development of *P. xylostella*.

收稿日期(Received): 2023-10-12 接受日期(Accepted): 2023-12-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(32072425); 福建省自然科学基金项目(2022J01457); 福建省农业科学院科技项目(GJYS202205、XTCXGC2021011、XTCXGC2021017)

作者简介: 李恒, 女, 研究实习生。研究方向: 昆虫生态学。E-mail: 592995627@qq.com

* 通信作者(Author for correspondence), 魏辉, E-mail: weihui@faas.cn; 陈勇, E-mail: chen0903@163.com

Key words: *Plutella xylostella*; RNA interference; chitin; UDP-N-acetylglucosamine pyrophosphorylase; expression profiling

小菜蛾 *Plutella xylostella* (L.) 俗称菜蛾、方块蛾、小青虫、两头尖, 属鳞翅目 Lepidoptera 菜蛾科 Plutellidae, 严重危害十字花科蔬菜, 全球每年因小菜蛾造成的经济损失达 40~50 亿美元(申建梅等, 2018; Furlong *et al.*, 2013; You *et al.*, 2013)。目前, 小菜蛾的主要防治手段依然依赖化学药剂, 化学药剂的大量使用造成环境污染、农药残留等问题频发, 严重影响了农业生态环境以及农产品质量安全(白建林等, 2022)。据报道, 小菜蛾已对超过 97 种不同类型的杀虫剂产生了抗性(Ma *et al.*, 2021)。因而, 亟需寻找新的药物作用靶标, 开发具有环境友好和生态安全的新农药。

几丁质是许多农业害虫、病菌体内不可或缺的生物组成部分。生物合成几丁质的过程中, 几丁质合成酶发挥着关键作用。若生物合成几丁质的过程被阻断, 害虫、真菌则会因为缺乏几丁质而死亡(许静静等, 2022)。UDP-N-乙酰氨基葡萄糖焦磷酸化酶(UDP-N-acetylglucosamine pyrophosphorylase, UAP)在细胞质中催化尿苷-5-三磷酸(UTP)和 N-乙酰氨基葡萄糖-1-磷酸(N-acetylglucosamine-1-phosphate, GlcNAc-1-P)反应合成 UDP-N-乙酰氨基葡萄糖(UDP-N-acetylglucosamine, UDP-GlcNAc), 进而合成几丁质, 是几丁质合成通路中的一个关键酶。UAP 在原核生物和真核生物中均有 -GGXXTXGXGXXPK (X 代表任何氨基酸) 保守结构域, 在进化过程中较为保守(Liu *et al.*, 2013)。现阶段研究人员已对家蚕 *Bombyx mori* L. (Palaka *et al.*, 2019)、暗黑鳃金龟 *Holotrichia parallela* Motschulsky (刘兆瑞等, 2022)、甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* Hübner (陈洁等, 2014)、西花蓟马 *Frankliniella occidentalis* Pergande (陆承聪等, 2019) 等昆虫的 UAP 蛋白基因开展了研究。生物信息学分析发现了小菜蛾基因组中一个预测为 UAP 的基因, 但其在小菜蛾几丁质合成过程中的功能尚待明确。本研究采用 RT-PCR 技术克隆验证小菜蛾几丁质合成通路中的 UAP 基因(*PxUAP*), 通过荧光定量 PCR 研究 *PxUAP* 在小菜蛾不同发育阶段和不同组织的时空表达模式, 并利用 RNAi 技术检验 *PxUAP* 对小菜蛾其他几丁质合成基因表达以及生长发育

的影响, 以期为探索 UAP 基因在昆虫生长发育过程中的功能提供依据。

1 材料和方法

1.1 供试昆虫

小菜蛾为福建省农业科学院植物保护研究所长期饲养于萝卜 *Raphanus sativus* L. 苗上的种群。饲养条件为温度(25 ± 2) °C、相对湿度(65 ± 5)%、光照周期 14 L:10 D。

1.2 总 RNA 的提取和 cDNA 的合成

以 Trizol 法提取小菜蛾的总 RNA, 详细方法参照 Trizol (Invitrogen) 试剂说明书。将提取的总 RNA 用 TransScript® Reverse Transcriptase 反转录试剂盒(北京全式金)合成 cDNA 第一链, 贮存于 -20 °C 备用。

1.3 *PxUAP* 基因克隆

根据小菜蛾基因组数据库(<http://iae.fafu.edu.cn/DBM/index.php>)中 *PxUAP* 基因序列信息, 应用 Primer Premier 5 软件设计 *PxUAP*-ORF 引物(表 1)进行扩增。详细 PCR 反应体系和程序参考陆承聪等(2019)。反应结束后, 取 5 μL PCR 产物, 加 1 μL 6×loading buffer 混合上样, 经 1% 琼脂糖凝胶电泳进行检测。取 5 μL 纯化回收片段与 pEASY®-T1 Cloning Kit 载体(北京全式金)连接, 转化到大肠杆菌 *Escherichia coli* 后挑选经鉴定的单菌落, 送至福州铂尚生物技术有限公司测序。

1.4 *PxUAP* 基因序列分析

通过 DNAMAN 软件将克隆获得的 *PxUAP* 基因序列翻译成蛋白质序列、预测蛋白分子质量和等电点(isoelectric point, pI)等; 使用 SignalP Server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>) 预测 *PxUAP* 信号肽; 使用 Conserved domains (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/lexington/lexington.cgi?cmd=rps>) 预测 *PxUAP* 蛋白的保守结构域。通过 NCBI Blastx 比对 *PxUAP* 氨基酸序列同源性, 选取鳞翅目、双翅目、直翅目、半翅目、蜚蠊目、蚤目、鞘翅目、脉翅目和缨翅目等共 18 个物种的 UAP 蛋白氨基酸序列, 利用 MEGA 7.0 软件以邻接法(neighbor joining, NJ)构建 *PxUAP* 系统发育树。

表 1 引物信息
Table 1 Primers used in this study

引物名称 Primer name	引物序列(5'-3') Primer sequences (5'-3')
<i>PxUAP</i> -ORF-F	ATGTCCTTTTGATACCCCTAAAGAAG
<i>PxUAP</i> -ORF-R	TCAATGTTTCCCATTCACACCA
<i>dsPxUAP</i> -F	TAATACGACTCACTATAGGGACAATGTCGGCCTTCCATCCC
<i>dsPxUAP</i> -R	TAATACGACTCACTATAGGGTGTCTACGCCTCGTTTGGTGA
<i>dsGFP</i> -F	TAATACGACTCACTATAGGGCGAGGAGCTGTTACACCG
<i>dsGFP</i> -R	TAATACGACTCACTATAGGGTCTCTCGATGTTGTGGCGG
<i>qPxRP</i> -F	CAATCAGGCCAATTTACCGC
<i>qPxRP</i> -R	CTGGGTTTACGCCAGTTACG
<i>PxUAP</i> -F	TCGAAGCGAGCAAAGTGATACAACA
<i>qPxUAP</i> -R	CCTCCAGCCAGTACCAATACTCCAAC
<i>qPxCHSA</i> -F	ATCCAATTCCAGACAGGAGGCACA
<i>qPxCHSA</i> -R	GTTCAACCACGAGCGGTATAACCAAGT
<i>qPxCHSB</i> -F	ATCAGTGGAGCGAAAGGAGGTCA
<i>qPxCHSB</i> -R	TGAAACCAGAGCCTACAGGGTGAAT

1.5 *PxUAP* 的时空表达模式

采用 RT-qPCR 检测 *PxUAP* 在小菜蛾幼虫、蛹和成虫阶段以及触角、头、胸、翅、腹、足组织的表达模式。选取初羽化 1 d 内的小菜蛾雌虫 20 头用于 *PxUAP* 组织表达分析,首先在 0.01 mol · L⁻¹ PBS (pH7.4)缓冲液中解剖出触角、头、胸、翅、腹(不包括中肠)、足组织;选取 1、2、3、4 龄各 1 d、蛹、雌虫和雄虫各 2 d、每组样品各 5 头,开展小菜蛾各个发育阶段 *PxUAP* 表达分析。所有样品根据 1.2 的方法提取总 RNA 并反转录为 cDNA,RT-qPCR 检测 *PxUAP* 的相对表达量。选取小菜蛾 *RP* 基因作为内参基因,不同发育阶段相对表达量选取 1 龄幼虫的 *PxUAP* 表达量为标准参量,不同组织表达量选取腹部的 *PxUAP* 表达量为标准参量。试验重复 3 次。采用 2^{-ΔΔC_t} 方法计算 *PxUAP* 基因的相对表达量。RT-qPCR 反应体系和反应程序参考陆承聪等(2019)。

1.6 *PxUAP* 的 dsRNA 合成

以绿色荧光蛋白 GFP 为对照,利用 Primer Premier 5 软件设计含有 T7 启动子序列的 *dsPxUAP* 和 *dsGFP* 引物。参考 HiScribe™ T7 HiScribe™ T7 Quick High Yield RNA Synthesis Kit (New England Biolabs)说明书,以 pEASY-*PxUAP* 和 *pUC-GFP* (实验室保存)质粒为模板,PCR 扩增含有 T7 启动子序列的 DNA 片段,然后以扩增获得的 DNA 片段为模板合成 dsRNA。

1.7 RNAi 后基因表达分析及表型观察

挑选小菜蛾 4 龄幼虫(蜕皮 1 d),采用显微注射法将 200 nL 质量浓度为 0.5 μg · μL⁻¹ *dsGFP*/

dsPxUAP 从腹部第 4~5 体节处注入腹腔(陈洁等,2014),将注射好的小菜蛾置于纸巾上吸干体表液体,随后挑选健康(毛刷轻触虫体,虫体有反应)的小菜蛾单管单头饲养。每 12 h 统计注射 *dsGFP* 和 *dsPxUAP* 各组试虫的存活率并观察表型变化,每组 50 头试虫,重复 3 次。同时,注射 *dsGFP*/*dsPxUAP* 小菜蛾各 50 头,在注射后 24、48、72 和 96 h,每个处理组随机选取 5 头小菜蛾,采用 RT-qPCR 检测靶基因 *PxUAP* 以及几丁质合成酶通路 *PxCHSA* 和 *PxCHSB* 基因的表达情况,试验重复 3 次。

1.8 数据分析

采用单因素方差(one-way ANOVA)分析数据,用 Tukey HSD 检验小菜蛾各个发育阶段和不同组织中 *PxUAP* 基因的 2^{-ΔΔC_t} 值差异显著性(*P*<0.05)。采用独立样本 *T* 检验分析注射 *dsGFP* 和 *dsPxUAP* 的小菜蛾不同时间 *PxUAP*、*PxCHSA* 和 *PxCHSB* 基因的表达以及存活率的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 *PxUAP* 基因的克隆与序列分析

利用 RT-PCR 克隆获得 *PxUAP* 基因,开放阅读框(open reading frame, ORF)序列长 1467 bp (图 1),编码 488 个氨基酸,编码蛋白中未发现信号肽,说明 *PxUAP* 不是分泌蛋白。*PxUAP* 蛋白相对分子质量约为 54.985 ku,预测等电点为 6.12。

将小菜蛾 UAP 氨基酸序列与其他昆虫的 UAP 氨基酸序列进行比对分析,结果表明,包括小菜蛾在内的 7 个不同物种的 UAP 氨基酸序列共有 174 个保守氨基酸残基位点,占比 35.51%,且均存在保守的特征结构域-GGXXTXXGXXXPk (图 2)。小

菜蛾与鳞翅目的金凤蝶 *Papilio machaon* Linnaeus (KPJ20218.1) 的 UAP 氨基酸序列同源性最高 (80.33%), 与双翅目、蚤目、直翅目、半翅目和蜚蠊目昆虫的 UAP 氨基酸序列同源性均低于 60%。

利用 Mega 7.0 软件,采用 NJ 法对小菜蛾与其他 18 种昆虫 UAPs 序列构建系统发育树(图 3),结果显示,小菜蛾 UAP 蛋白的氨基酸序列与鳞翅目昆虫的 UAPs 同源性较高,其中与金凤蝶 (KPJ20218.1) 亲缘关系最近;与蚤目、双翅目、鞘翅目、脉翅目、缨翅目、直翅目、蜚蠊目和半翅目昆虫的 UAPs 的亲缘关系相对较远。

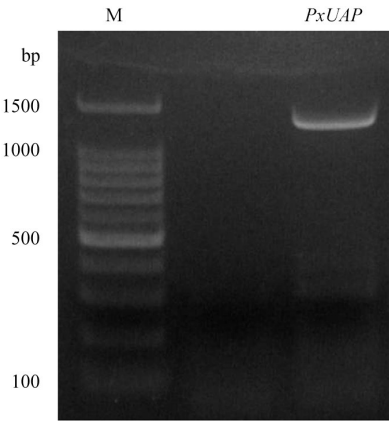


图 1 小菜蛾 *PxUAP* 基因 PCR 扩增
Fig.1 PCR amplification of *PxUAP* of *P. xylostella*

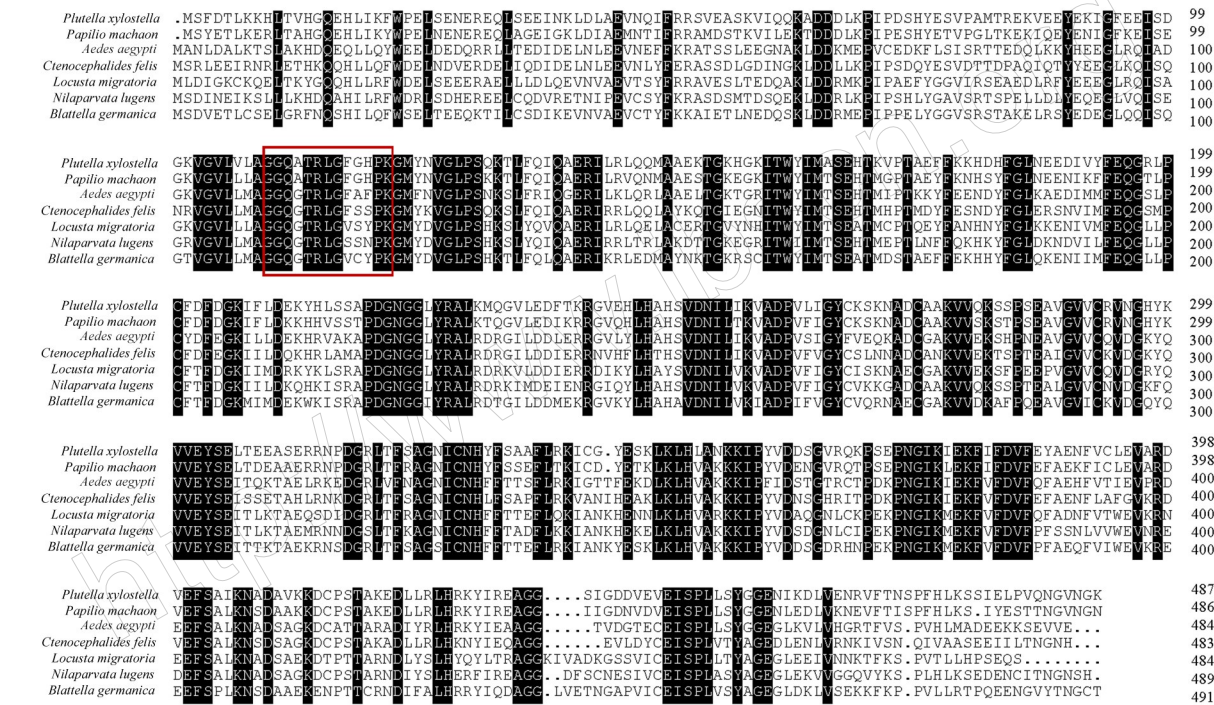


图 2 昆虫 UAPs 氨基酸序列比对

Fig.2 Amino acid sequence alignment of UAPs in insects

方框标注为 UAPs 的特征结构域。

The feature domains of UAPs are marked with box.

2.2 *PxUAP* 基因的时空表达模式

RT-qPCR 分析结果表明, *PxUAP* 在小菜蛾各个发育阶段和不同组织中均有表达。其中,在小菜蛾幼虫期表达量呈上升趋势,4 龄幼虫的表达量最高,为 1 龄幼虫的 3.76 倍。在成虫期,雌虫和雄虫的表达量分别为 1 龄幼虫的 2.76 和 7.65 倍,雄成虫中的表达量显著高于雌成虫(图 4A)。在雌成虫翅和足中 *PxUAP* 表达量最高,触角、头和胸的表达量次之,腹部的表达量最低(图 4B)。

2.3 RNAi 沉默 *PxUAP* 基因后对小菜蛾几丁质合成酶基因、存活率及表型的影响

RT-qPCR 检测结果显示,微针注射 *dsPxUAP* 后,小菜蛾 *PxUAP* 基因的 mRNA 水平呈下降趋势,与 *dsGFP* 对照组相比, *PxUAP* 基因在处理 24、48、72 和 96 h 分别为对照组的 67.33%、21.79%、15.56% 和 11.20% (图 5),表明微针注射 *dsPxUAP* 显著降低了靶标基因的表达量。此外,本研究检测了几丁质合成酶通路基因 *PxCHSA* 和 *PxCHSB* 的表

达情况。结果表明,在注射 *dsPxUAP* 后 24~96 h,几丁质合成酶 *PxCHSA* 与对照组相比均显著下调;在注射 *dsPxUAP* 后 24~48 h,*PxCHSB* 的表达量与 *dsGFP* 组相比显著下调,但在 72 和 96 h 与对照组相比差异不显著(图 6)。

存活率和表型结果显示,小菜蛾死亡主要集中在微针注射后 24~72 h,从 36 h 开始,*dsPxUAP* 处理组与 *dsGFP* 对照组死亡率达显著差异 ($P <$

0.05);注射后 168 h 时,处理组个体全部死亡,但对对照组仍有 50%的个体存活(图 7)。由此可见,干扰 *PxUAP* 基因对小菜蛾正常的生长发育产生了极大的影响。

表型观察结果显示,注射 *dsGFP* 后 48 h 未死亡的小菜蛾大多能成功化蛹,*dsPxUAP* 处理组大部分个体出现蛹壳皱缩、凹陷以及无法褪去蛹壳等畸形现象,无法完成化蛹过程(图 8)。

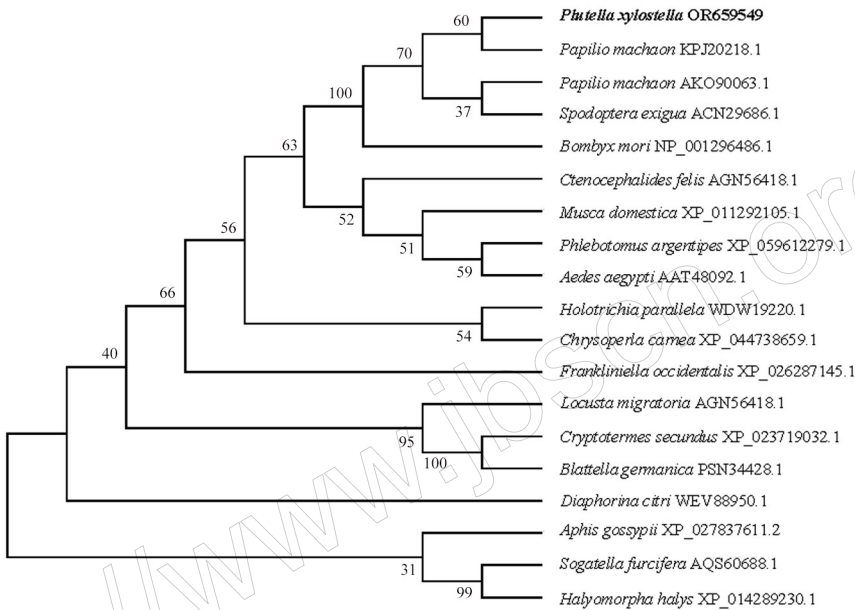


图 3 19 种昆虫的 *PxUAP* 蛋白的进化树
Fig.3 Phylogenetic tree of *PxUAP* protein in 19 species of insects

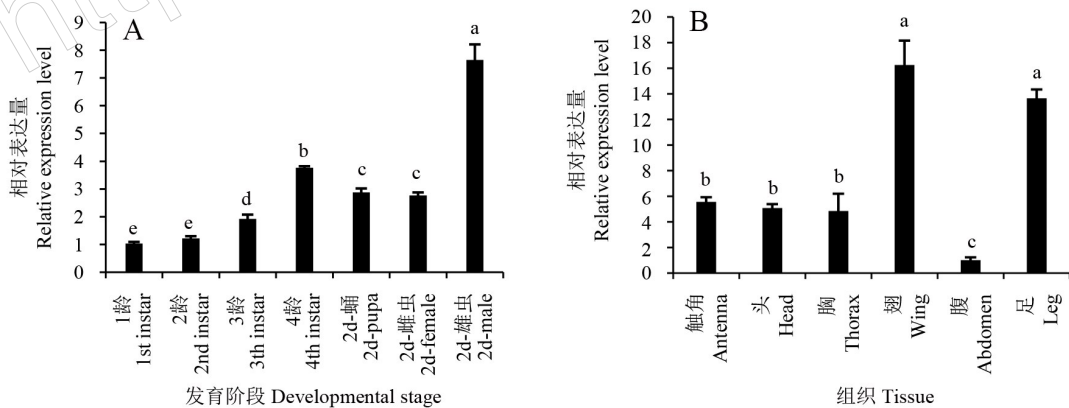


图 4 小菜蛾各个发育阶段 (A) 及不同组织 (B) *PxUAP* 基因的表达

Fig.4 Relative expression of *PxUAP* in *P. xylostella* at various developmental stages (A) and different tissues (B)
柱上不同字母表示基因相对表达量在不同发育阶段和组织间差异显著 ($P < 0.05$).
Different letters above bars indicate significant difference in the gene expression level among different developmental stages and tissues ($P < 0.05$).

3 讨论

UAP 被认为是杀虫剂的良好靶标,阻断其功能对昆虫生长产生不利影响。UAP 是昆虫几丁质代

谢途径的关键调控因子之一。*PxUAP* 在小菜蛾各个发育阶段均有表达,在幼虫期表达量呈上升趋势,4 龄时表达量最高;在成虫期也有较高表达量,

与甜菜夜蛾、西花蓟马和暗黑鳃金龟等的 *UAP* 基因表达模式相似(陈洁等,2014;刘兆瑞等,2022;陆承聪等,2019),推测幼虫期合成大量的几丁质以满足生长发育需求。*PxUAP* 在翅和足中大量表达,触角、头部和胸部次之,腹部的表达量最低。研究表明,白背飞虱 *Sogatella furcifera* Horvath 中 *SfUAP* 在表皮和脂肪体高表达,在头、肠道和卵巢中也有一定的表达(王召,2019),家蚕中 *BmUAP* 在表皮中表达量最高,在肠道和唾液腺次之,在马氏管和脂肪体低表达,头部表达最少(Palaka *et al.*,2019),说明 *UAP* 基因在昆虫组织中表达不同,但都与几丁质的合成有关。本研究中小菜蛾的翅和足中 *UAP* 高表达表明翅和足的形成对几丁质有较高需求。

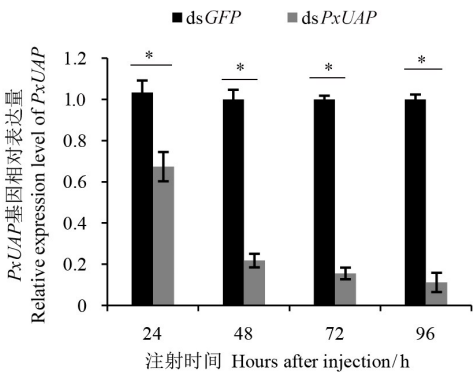


图 5 注射 dsPxUAP 后小菜蛾靶基因的相对表达量

Fig.5 Relative expression levels of *PxUAP* in *P. xylostella* after ds*PxUAP* injection

* 表示与对照组 (dsGFP 注射组) 表达量差异显著 ($P<0.05$)。

* indicate significant difference in the gene expression level from the control group (dsGFP injection group).

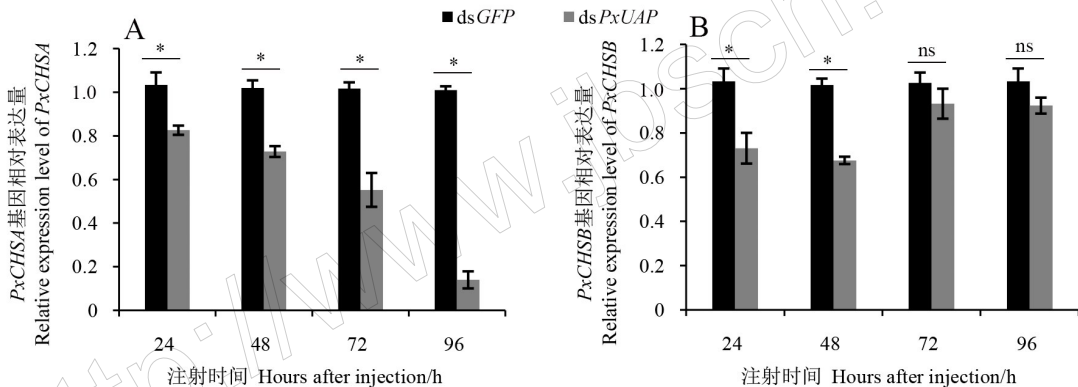


图 6 注射 dsPxUAP 后小菜蛾几丁质合成酶基因 *PxCHSA* (A) 和 *PxCHSB* (B) 的相对表达量

Fig.6 Relative expression levels of *PxCHSA* (A) and *PxCHSB* (B) in *P. xylostella* after ds*PxUAP* injection

* 表示与对照组 (dsGFP 注射组) 基因表达量差异显著 ($P<0.05$), ns 表示差异不显著。

* indicate significant difference in the gene expression level from the control group (dsGFP injection group) ($P<0.05$), ns indicate no significant difference.

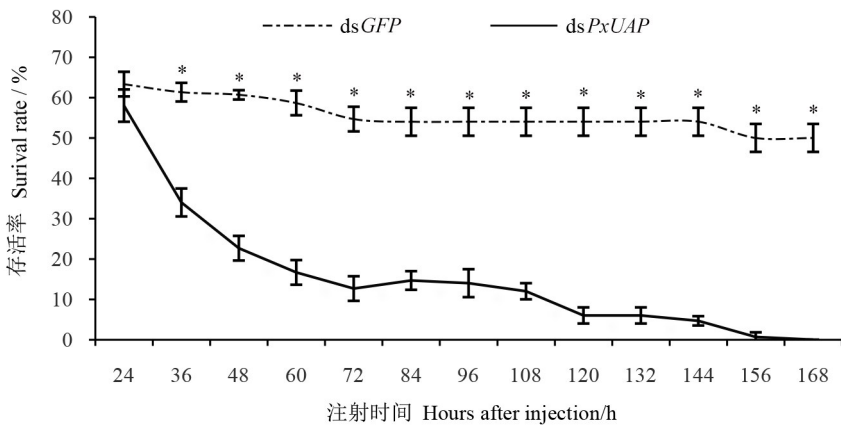


图 7 注射 dsPxUAP 对小菜蛾存活率的影响

Fig.7 Survival rate of *P. xylostella* after ds*PxUAP* injection

* 表示与对照组 (dsGFP 注射组) 存活率差异显著 ($P<0.05$)。

* indicate significant difference in the survival rate from control group (dsGFP injection group) ($P<0.05$).

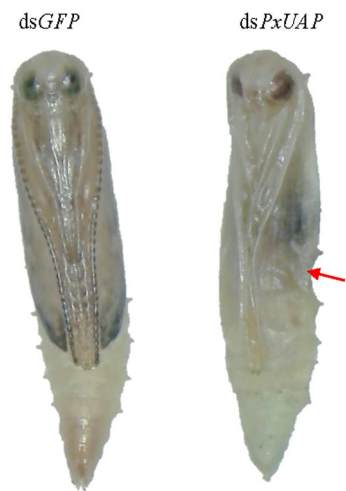


图 8 注射 dsPxUAP 后小菜蛾蛹表型的变化
Fig.8 Phenotypic change of the pupa of *P. xylostella* after dsPxUAP injection

RNAi 技术已广泛应用于昆虫功能基因的研究 (Cooper *et al.*, 2019; Zhu *et al.*, 2019)。研究发现, 干扰暗黑鳃金龟的 *HpUAP* 基因, 暗黑鳃金龟活动缓慢、表皮颜色加深并皱缩、几丁质合成受损、死亡率增加 (刘兆瑞等, 2022); 干扰柑橘木虱 *Diaphorina citri* Kuwayama 的 *DcUAP*, 柑橘木虱死亡率增加, 几丁质合成受损致使翅畸形和蜕皮困难 (杨珊, 2023); 沉默稻纵卷叶螟 *Cnaphalocrocis medinalis* Guenee 的 *CmUAP* 基因, 其体重减轻、腹部萎缩、体色变黑且翅畸形 (Zhou *et al.*, 2021)。本研究中, 对 4 龄初期的小菜蛾幼虫注射 dsPxUAP, *PxUAP* 基因的表达显著被抑制, 小菜蛾化蛹受阻, 蛹畸形或死亡。这可能与下游基因几丁质合成酶 *PxCHSA* 的下调表达有关, 但对几丁质合成酶 *PxCHSB* 的影响较小。后期试验可以分别沉默 *PxCHSA* 和 *PxCHSB*, 观察对小菜蛾的几丁质合成以及存活率的影响。

植物介导的昆虫 RNAi 是指昆虫取食特定基因的 dsRNA 后沉默了特定靶基因的表达, 使昆虫生长发育受阻 (Liu *et al.*, 2020)。植物介导 dsRNA 已在烟粉虱 *Bemisia tabaci* Gennadius (Gong *et al.*, 2022)、荻草谷网蚜 *Sitobion miscanthi* Takahashi (Zhang *et al.*, 2023) 和绿盲蝽 *Apolygus lucorum* Meyer-Dür (Liu *et al.*, 2019) 等害虫防治中取得较大进展。本研究对小菜蛾 *PxUAP* 基因进行克隆鉴定, 明确该基因在小菜蛾生长发育过程中起重要作用, 可为新杀虫剂创制或基于 RNA 干扰 (RNAi) 的害虫管理提供潜在靶点。

参考文献

白建林, 林桂芳, 王月, 赵茜, 彭露, 谢苗, 杨婕, 何玮毅, 尤民生, 2022. 小菜蛾幼虫偏好表达的 microRNA 鉴定及功能研究. 生物安全学报, 31(1): 64–74.

陈洁, 陈宏鑫, 姚琼, 张文庆, 2014. 甜菜夜蛾 *UAP* 的克隆、时空表达及 RNAi 研究. 中国农业科学, 47(7): 1351–1361.

刘兆瑞, 吴涵, 郭晓昌, 李亚子, 赵丹, 郭巍, 2022. 暗黑鳃金龟 UDP-N-乙酰氨基葡萄糖焦磷酸化酶 (*UAP*) 基因的克隆、原核表达及功能分析. 昆虫学报, 65(5): 568–576.

陆承聪, 李恒, 张祥琴, 王凉, 陈艺欣, 田厚军, 林硕, 张洁, 陈勇, 魏辉, 2019. 西花蓟马几丁质合成酶 *UAP* 基因克隆及功能分析. 福建农业学报, 34(12): 1419–1425.

申建梅, 陈炳翰, 黄丹青, 何梦琪, 胡黎明, 2018. 小菜蛾几丁质酶基因的克隆及表达分析. 环境昆虫学报, 40(1): 173–179.

王召, 2019. 白背飞虱几丁质合成通路基因的克隆及功能研究. 博士学位论文. 贵阳: 贵州大学.

许静静, 李思琪, 任梦圆, 薛雨欣, 李永强, 2022. 昆虫几丁质合成关键酶功能及其 RNAi 技术在害虫防治中的研究进展. 陕西农业科学, 68(8): 1–10.

杨珊, 2023. 柑橘木虱几丁质合成关键基因的表达和功能研究. 博士学位论文. 南昌: 南昌大学.

COOPER A M, SILVER K, ZHANG J Z, PARK Y, ZHU K Y, 2019. Molecular mechanisms influencing efficiency of RNA interference in insects. *Pest Management Science*, 75(1): 18–28.

FURLONG M J, WRIGHT D J, DOSDALL L M, 2013. Diamond-back moth ecology and management: problems, progress, and prospects. *Annual Reviews Entomology*, 58: 517–541.

GONG C, YANG Z Z, HU Y, WU Q J, WANG S L, GUO Z J, ZHANG Y J, 2022. Silencing of the *BtTPS* genes by transgenic plant-mediated RNAi to control *Bemisia tabaci* MED. *Pest Management Science*, 78(3): 1128–1137.

LIU F Z, YANG B, ZHANG A H, DING D R, WANG G R, 2019. Plant-mediated RNAi for controlling *Apolygus lucorum*. *Frontiers in Plant Science*, 10: 64.

LIU S S, JAOUANNET M, DEMPSEY D A, IMANI J, COUATAU C, KOGEL K H, 2020. RNA-based technologies for insect control in plant production. *Biotechnology Advances*, 39: 107463.

LIU X J, LI F, LI D Q, MA E, ZHANG W Q, ZHU K Y, ZHANG J Z, 2013. Molecular and functional analysis of UDP-N-acetylglucosamine pyrophosphorylases from the migratory locust, *Locusta migratoria*. *PLoS ONE*, 8(8): e71970.

MA C S, ZHANG W, PENG Y, ZHAO F, CHANG X Q,

- XING K, ZHU L, MA G, YANG H P, RUDOLF V H W, 2021. Climate warming promotes pesticide resistance through expanding overwintering range of a global pest. *Nature Communication*, 12: 5351.
- PALAKA B K, LLAVARASI A V, SAPAM T D, KOTAPATI K V, NALLALA V S, KHAN M B, AMPASALA D R, 2019. Molecular cloning, gene expression analysis, and in silico characterization of UDP-N-acetylglucosamine pyrophosphorylase from *Bombyx mori*. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 66(5): 880–899.
- YOU M S, YUE Z, HE W Y, YANG X H, YANG G, XIE M, ZHAN D L, BAXER S W, VASSEUR L, GURR G M, DOUGLAS C J, BAI J L, WANG P, CUI K, HUANG S G, LI X C, ZHOU Q, WU Z Y, CHEN Q L, LIU C H, WANG B, LI X J, XU X F, LU C X, HU M, DAVEY J W, SMITH S M, CHEN M S, XIA X F, TANG W Q, KE F S, ZHENG D D, HU Y L, SONG F Q, YOU Y C, MA X L, PENG L, ZHENG Y K, LIANG Y, CHEN Y Q, YU L Y, ZHANG Y N, LIU Y Y, LI G Q, FANG L, LI J X, ZHOU X, LUO Y D, GOU C Y, WANG J Y, WANG J, YANG H M, WANG J, 2013. A heterozygous moth genome provides insights into herbivory and detoxification. *Nature Genetics*, 45(2): 220–225.
- ZHANG J H, LI H Y, ZHOU X, TIAN J F, SERGERS A, XIA L Q, FRANCIS F, 2023. Silencing an aphid-specific gene *SmdSR33* for aphid control through plant-mediated RNAi in wheat. *Frontiers in Plant Science*, 13: 1100394.
- ZHOU Y J, DU J, LI S W, SHAKEEL M, MENG X G, 2021. Cloning, characterization, and RNA interference effect of the UDP-N-Acetylglucosamine pyrophosphorylase gene in *Cnaphalocrocis medinalis*. *Genes*, 12(4): 464.
- ZHU B, SHAN J Q, LI R, LIANG P, GAO X W, 2019. Identification and RNAi-based function analysis of chitinase family genes in diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Pest Management Science*, 75(7): 1951–1961.
- (责任编辑:郭莹)
-
- (上接第 401 页)
- RÖDDER D, SCHMIDTLEIN S, VEITH M, LÖTTERS S, 2009. Alien invasive slider turtle in unpredicted habitat: a matter of niche shift or of predictors studied? *PLoS ONE*, 4(11): e7843.
- SHI H T, PARHAM J F, FAN Z Y, HONG M L, YIN F, 2008. Evidence for the massive scale of turtle farming in China. *Oryx*, 42(1): 147–150.
- SHRESTHA U B, SHARMA K P, DEVKOTA A, SIWAKOTI M, SHRESTHA B B, 2018. Potential impact of climate change on the distribution of six invasive alien plants in Nepal. *Ecological Indicators*, 95: 99–107.
- STRAIN G F, ANDERSON J T, MICHAEL E D, TURK P J, 2012. Hibernacula use and hibernation phenology in the common snapping turtle (*Chelydra serpentina*) in Canaan Valley, West Virginia. *Journal of Herpetology*, 46(2): 269–274.
- WALDOCK C, STUART-SMITH R D, ALBOUY C, CHEUNG W W L, EDGAR G J, MOUILLOT D, TJIPUTRA J, PELLISSIER L, 2022. A quantitative review of abundance-based species distribution models. *Ecography*: e05694. DOI: 10.1111/ecog.05694.
- WANG Z L, XU D P, LIAO W K, XU Y, ZHUO Z H, 2023. Predicting the current and future distributions of *Frankliniella occidentalis* (Pergande) based on the MaxEnt species distribution model. *Insects*, 14: 458.
- WEI B, WANG R L, HOU K, WANG X Y, WU W, 2018. Predicting the current and future cultivation regions of *Carthamus tinctorius* L. using MaxEnt model under climate change in China. *Global Ecology and Conservation*, 16: e00477.
- WISZ M S, HIJMANS R J, LI J, PETERSON A T, GRAHAM C H, GUISAN A, 2008. Effects of sample size on the performance of species distribution models. *Diversity and Distributions*, 14(5): 763–773.
- ZHU G L, TANG Y Y, LIMPANONT Y, WU Z D, LI J, LÜ Z Y, 2019. Zoonotic parasites carried by invasive alien species in China. *Infectious Diseases of Poverty*, 8(1): 1–17.
- (责任编辑:郑姗姗)