研 究 报 告
Research Reports

Met 基因在黏虫生殖中的功能分析

刘娟娟[1]， 李 平[2]， 江幸福[1]， 程云霞[1]， 张 蕾[1*]

(1. 中国农业科学院植物保护研究所，植物病虫害生物学国家重点实验室，北京 100193；2. 南京农业大学，南京 210095)

摘要 保幼激素(juvenile hormone，JH)是由咽侧体分泌的倍半萜类化合物，可以调控昆虫的很多生理过程，如发育、变态、生殖等。作为 bHLH-PAS(helix-loop-helix-Per-ARNT-Sim)转录因子家族成员之一的 methoprene-tolerant (Met)是 JH 的受体，在 JH 的信号传导过程中有非常重要的作用。本研究通过实时荧光定量 PCR 结合 RNAi 技术测定了沉默 *Met* 基因后黏虫 *Mythimna separata* 的 *Vg* 基因表达、卵巢发育和生殖行为，旨在探究 *Met* 基因在黏虫生殖过程中的功能。结果表明当 *Met* 基因沉默后，与卵巢发育密切相关的卵黄原蛋白(vitellogenin，Vg)基因表达量下调了 50%，从而显著抑制了卵巢发育，并导致产卵显著延迟、产卵历期显著缩短，产卵量显著下降。结果表明 *Met* 基因是黏虫生殖发育过程中的关键受体基因，它通过调节后续 Vg 的表达和沉积，来达到控制卵巢发育，从而调控生殖作用。

关键词 黏虫； 保幼激素； Met； 卵黄原蛋白； 生殖

中图分类号： Q965 **文献标识码**： A **DOI**： 10.16688/j.zwbh.2019113

Function of methoprene-tolerant genes in the reproduction of *Mythimna separata*

LIU Juanjuan[1]， LI Ping[2]， JIANG Xingfu[1]， CHENG Yunxia[1]， ZHANG Lei[1]

(1. *State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests*，*Institute of Plant Protection*，*Chinese Academy of Agricultural Sciences*，*Beijing* 100193，*China*；2. *Nanjing Agricultural University*，*Nanjing* 210095，*China*)

Abstract Juvenile hormone (JH) is a sesquiterpene compound secreted by the corpus allatum and can regulate many physiological processes of insects, such as development, metamorphosis, reproduction, etc. Methoprene-tolerant (Met), belonging to the family of the basic helix-loop-helix-Per-ARNT-Sim (bHLH-PAS) transcription factors, is most likely the receptor of juvenile hormone (JH) and plays a crucial role in JH signaling pathway. In this study, we used qPCR combined with RNAi to determine the expression of *Vg* gene, ovarian development and reproductive behavior in *M. separata* after silencing *Met* gene, aiming to explore the functions of *Met* in the reproduction of *M. separata*. The results showed that, when *Met* gene was silenced, the expression of *Vg* gene, which is closely related to ovarian development, was down-regulated by 50%, leading to the significant inhibition of ovarian development, the delay of oviposition and the decrease of oviposition period and egg production. The results indicated that the *Met* gene is a key receptor gene in the process of reproductive development of *M. separata*. It regulates the expression and deposition of Vg to control ovarian development and regulate reproduction in *M. separata*.

Key words *Mythimna separata*； juvenile hormone； methoprene-tolerant； vitellogenin； reproduction

生殖是昆虫在生态系统中维持种群繁衍的基本特性[1]。保幼激素(juvenile hormone，JH)是由昆虫的咽侧体分泌的倍半萜类化合物，参与调控昆虫生长、发育、变态、滞育和繁殖等多个过程。在雌性成虫中 JH 通过控制卵黄原蛋白的合成和摄取来调控昆虫的生殖行为[2]。研究发现棉铃象甲 *Anthonomus grandis*、德国小蠊 *Blattella germanica*、赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* 咽侧体分泌的 JH 通常诱导卵黄原蛋白

收稿日期： 2019-03-08 **修订日期**： 2019-04-05
基金项目： 国家自然科学基金(31871951，31672019)；国家重点研发计划(2017YFD0201802，2017YFD0201701)；北京市自然科学基金(6172030)；国家绿肥产业技术体系(CARS-22)；国家公益性行业(农业)科研专项(201403031)；中央级公益性科研业务费专项(1610142017009)
* 通信作者 E-mail：leizhang@ippcaas.cn

(vitellogenin,Vg)在脂肪体中合成,分泌到血淋巴中,进而被卵母细胞吸收[3-5]。此外,对蟑螂和蝗虫外源点滴保幼激素类似物后,可以诱导卵黄原蛋白在脂肪体内大量合成[6-9]。

研究表明,JH 需要通过受体才能发挥作用。前期对许多昆虫的 JH 信号传导的分子机制研究表明作为 bHLH-PAS 转录因子家族成员之一的 Met (methoprene-tolerant)最有可能为 JH 的受体。RNAi 干扰赤拟谷盗 *Met* 基因后,出现了早熟蛹[10]。Met 与 JH 共同调节着昆虫的生殖、卵巢的发育和 Vg 的合成。双翅目果蝇 Met 突变体[11-12]以及 RNAi 干扰 *Met* 基因后的埃及伊蚊[13-14]都表现出卵巢发育迟缓和生殖力下降。在太平洋硕蠊 *Diploptera punctata* 和臭虫 *Cimex lectularius* 中,*Met* 基因被沉默后显著降低了 Vg 信使 RNA (mRNA)的表达[15-16]。在直翅目东亚飞蝗 *Locusta migratoria* 中已经证实 JH 通过 *Met* 基因控制卵黄发生和卵母细胞成熟[17]。

黏虫 *Mythimna separata* 是一种典型远距离迁飞害虫,寄主植物达 100 多种,是严重威胁我国玉米、小麦和水稻三大主粮生产的重大害虫。新中国成立后黏虫多次暴发成灾并造成了巨大经济损失,严重威胁我国农业经济的发展[18]。前期研究发现,JH 调控贯穿在黏虫迁飞和生殖的过程中。黏虫在性成熟前开始迁飞,经过长距离迁飞后迁入种群的 JH 和卵巢发育级别均高于迁出种群[19-20]。羽化后 1 日龄飞行显著提升咽侧体(corpus allatum,CA)的活性,加速飞行肌降解[21]。1 日龄点滴 JH 类似物(juvenile hormone analogue, JHA)使产卵提前,飞行能力下降;1 日龄是 JH 作用的关键时期[22]。此外,羽化后 1 日龄黏虫 *Met* 基因的表达量显著高于其他日龄,且黏虫飞行 2 个夜晚后卵巢内 *Met* 表达量显著提高[23]。因此明确 JH 在黏虫生殖过程中的信号传导途径,可以提高黏虫的预测预报和防控水平。在本研究中,利用 RNA 干扰技术,抑制 *Met* 基因的表达,从而明确了 Met 在黏虫生殖过程中的功能。

1　材料方法

1.1　试验材料

供试昆虫:野外采集黏虫成虫在实验室繁殖 1、2 代后的成虫供试。幼虫采用约 40 cm 高的玉米叶饲养,饲养密度为 10 头/瓶,温度为 24℃,光周期为 L//D=14 h//10 h,相对湿度为 70%左右[24]。

主要仪器和试剂:荧光定量 7500 Real-time PCR(ABI 公司,美国);微量注射仪(WPI 公司,美国)。TRIzol 试剂(Invitrogen 公司,美国);反转录试剂盒 FastQuant RT Kit(with gDNase)(天根生物科技有限公司,北京);实时荧光定量试剂盒 SuperReal PreMix Plus(SYBRGreen)(天根生物科技有限公司,北京);普通引物合成(生工生物工程股份有限公司,上海);*Taq* Master Mix(Dye Plus)(诺唯赞生物科技有限公司,南京);基因干扰引物(锐博生物科技有限公司,广州)。

1.2　试验方法

RNAi 引物设计与合成:利用 NCBI 及黏虫转录组数据库查找出 *Met* 基因(登录号:MH050927.1)序列,由锐博生物有限公司(广州)公司设计并合成 3 条 *Met* 基因的 siRNA 片段及 1 条与黏虫任何基因的转录本都不同源的阴性对照(NC)siRNA 片段(表 1)。

表 1　本试验所需 siRNA 片段

Table1　siRNA fragments used in the experiments

siRNA 片段 siRNA fragment	片段序列(5′-3′) Fragment sequence	siRNA 片段用途 Use of siRNA fragment
siRNA-1	TGAGATTTGACTCAAGGAA	沉默 *Met* 基因 siRNA 片段筛选
siRNA-2	CCGATATAGTACATTCACA	
siRNA-3	GAAGATTATGGATGCAGAA	
NC	AGTAAATCGGTAAGGGTAA	阴性对照

RNAi 引物筛选:注射日龄为初羽化 1 日龄,注射浓度为 0.1 nmol/μL,体积为 2 μL,注射部位为雌蛾腹部第 5～6 节间膜,取样时间为注射后 24、48、72 h。共设置 5 组处理,每组处理设置 3 个重复。其中以注射相同体积的无 RNA 酶水为空白对照,以 NC 为阴性对照 0.1 nmol/μL,以 siRNA-1、siRNA-2、siRNA-3 为 *Met* 基因 RNA 干扰处理组。注射后解剖卵巢取样,采用实时荧光定量 PCR 方法检测对 *Met* 基因的干扰效果,沉默效率=(1－基因沉默后组织中 *Met* 基因的表达量/清水对照组织中 *Met* 基因的表达量)×100%。筛选出沉默效率最高的 siRNA 片段及注射后时间。

Met 基因的功能验证:根据以上引物筛选结果,选取抑制效果最佳的 *Met* 基因的 siRNA 片段,选择初羽化 1 日龄雌蛾进行注射,以注射 siRNA 的黏虫为处理,注射浓度为 0.1 nmol/μL,体积为 2 μL;以注射相同浓度和体积 NC 的黏虫作为阴性对照;以

注射相同体积的无 RNA 酶水作为对照；采用实时荧光定量 PCR 方法测定 RNA 干扰 48 h 后 *Vg* 基因的相对表达量，研究 *Met* 基因表达被抑制后卵巢发育情况；此外，注射后立即与雄蛾一比一配对，每日饲喂 5%新鲜蜂蜜水直至成虫死亡，记录产卵前期、总产卵量、产卵历期、交配次数等参数。

表 2 本试验所需引物

Table 2 Primers used in the experiments

引物名称 Primer name	引物序列(5′-3′) Primer sequence	引物用途 Use of primer
Met-qF	TGGGTCATTTGTGTCCTACG	实时荧光定量 PCR
Met-qR	TCAAGGAAGCCTCGTGTTCT	
Vg-qF	TGGCCCAGATGACCCATGAT	
Vg-qR	ACTGAGCTGCCCTAGACAGG	
β-Actin-qF	AACTTCCCGACGGTCAAGTCAT	
β-Actin-qR	TGTTGGCGTACAAGTCCTTACG	

1.2.1 总 RNA 的提取及 cDNA 的合成

取处理后雌蛾的卵巢 3 对放入无 RNA 酶离心管中，利用 TRIzol 方法提取总 RNA。用无 RNA 酶水溶解后，用 NanoDrop 分光光度计测定核酸浓度以及 OD_{260}/OD_{280}。参照 Transcriptor First Strand cDNA Synthesis 试剂盒(天根生物科技有限公司，北京)合成 cDNA。

1.2.2 实时荧光定量 PCR 反应

从黏虫转录组数据库及 NCBI GenBank 数据库获得黏虫 *Vg* 基因(登录号：KF501044.1)和 *Met* 基因序列，由上海生物工程股份有限公司设计并筛选出比较合理的引物 Met-qF/Met-qR、Vg-qF/Vg-qR，用于 qPCR 试验。内参基因选择黏虫 *β-actin* 基因[25-26](登录号：GQ856238.1)。

本试验采用的方法是 SYBR Green 法。每个处理有 3 个生物学重复及 3 个技术重复。荧光定量 PCR 反应程序为：95℃预变性 15 min 后进行 40 个循环，循环条件包括 95℃变性 10 s，60℃退火 30 s，72℃延伸 32 s；*Met* 基因的反应体系：2×SuperReal PreMix Plus 10 μL，上下游引物各 0.6 μL，50×ROX Reference Dye 0.4 μL，cDNA 模板 2 μL，加 RNAase-free ddH_2O 补齐至 20 μL。*Vg* 基因的反应体系：2×SuperReal PreMix Plus 10 μL，上下游引物各 0.8 μL，50×ROX Reference Dye 0.4 μL，cDNA 模板 2 μL，加 RNAase-free ddH_2O 补齐至 20 μL。

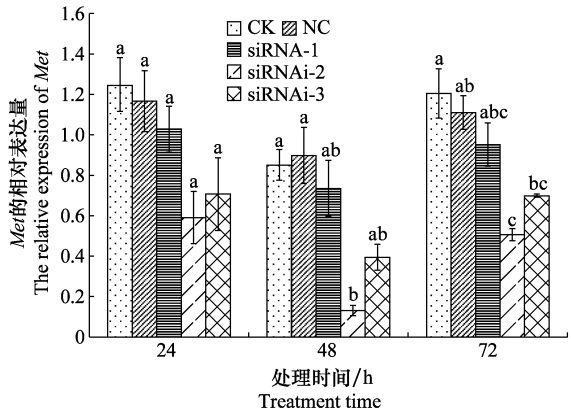
1.2.3 数据处理与分析

使用 SPSS 20.0 软件进行数据统计分析。试验得到的参数均由均值±标准误表示。通过 $2^{-\triangle\triangle Ct}$ 法对黏虫 *Met* 和 *Vg* 基因定量测定数据中的 Ct 值进行处理分析。所有数据均采用单因素方差分析(one-way ANOVA)，平均数多重比较使用Tukey's HSD 法，差异显著性检验水平为 $P<0.05$。

2 结果与分析

2.1 siRNA 片段的筛选

从 *Met* 基因荧光定量的结果(图 1)可以看出：3 个处理时间的结果中阴性对照与清水对照没有显著性的差异；注射后 24 h，siRNA-1、siRNA-2、siRNA-3 3 条片段均无显著的沉默效果($F_{4,40}=3.719$，$P=0.063$)，片段 siRNA-2 沉默效率最高，为 64%；注射后 48 h，片段 siRNA-2 有显著的沉默效果($F_{4,40}=6.257$，$P<0.05$)，其中片段 siRNA-2 的沉默效率可达 80%以上；注射后 72 h，片段 siRNA-2 仍有显著的沉默效果但沉默效率下降($F_{4,40}=12.253$，$P<0.05$)，其中片段 siRNA-2 的沉默效率降为 58%。因此，片段 siRNA-2 对 *Met* 基因的沉默效率最高，并且处理后 48 h 沉默效果最佳。



图中数据为平均值±标准误；不同小写字母代表经Tukey's HSD多重比较在P=0.05水平差异显著，所有供试样本数均为9。下同
Values are means± SE; different lowercase letters indicate significant difference at 0.05 by Tukey's HSD. All sample sizes are 9. The same below

图 1 不同 siRNA 片段处理不同时间后 *Met* 基因的表达量

Fig. 1 Expression of *Met* gene of different siRNA fragment in different treatment of time

2.2 *Met* 基因干扰后对 *Vg* 基因表达量以及卵巢发育的影响

通过以上 siRNA 片段的筛选结果，采用片段 siRNA-2 干扰 *Met* 基因 48 h 后，*Vg* 基因的表达量显著下调($F_{2,6}=15.402$，$P=0.004$)，与清水对照相比下调了约 50%；阴性对照与清水对照相比 *Vg* 基因的表达量没有显著性变化(图 2)。从图 3 可以看出，干扰 *Met* 基因后，卵巢的发育级别与对照相比

显著降低($F_{2,57}=10.091$, $P<0.05$)。从图 4 可以看出,*Met* 基因被干扰 48 h 后,卵巢的发育显著减缓,卵巢管透明,卵粒还未形成,卵黄尚未沉积,卵巢的发育级别多数为 1 级;清水对照卵巢的发育级别多数为 2 级,卵巢管为白色,卵巢管中已形成卵粒。

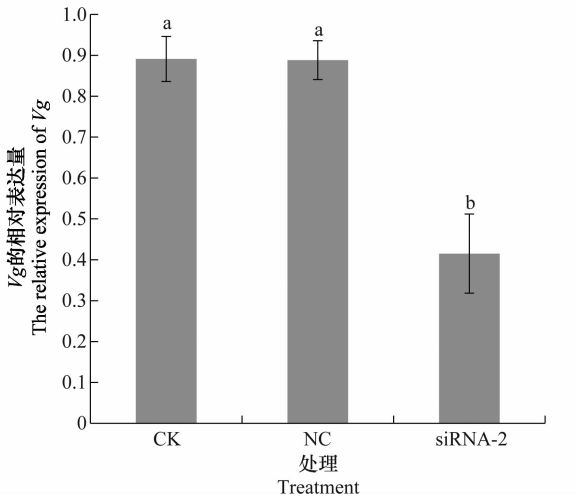
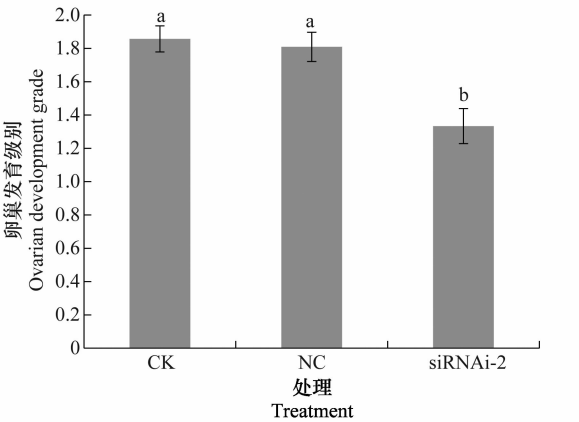


图 2　干扰黏虫 *Met* 基因 48 h 后 *Vg* 基因的相对表达量

Fig. 2　Relative expression levels of *Vg* gene after interfering *Met* gene of *Mythimna separata* for 48 h

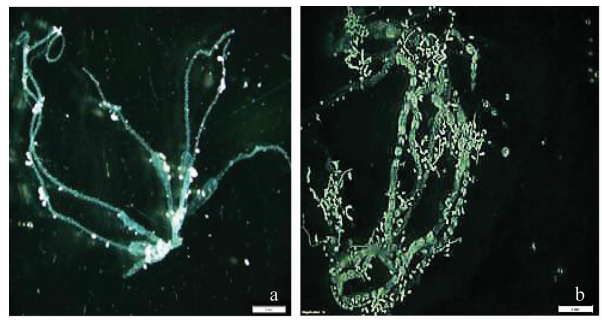


图中数据为平均值±标准误; 不同小写字母代表经Tukey's HSD多重比较在P=0.05水平差异显著; 所有供试样本数均为20。下同

Values are means± SE; different lowercase letters indicate significant difference at 0.05 by Tukey's HSD. All sample sizes are 20. The same below

图 3　干扰黏虫 *Met* 基因 48 h 对卵巢发育级别的影响

Fig. 3　Ovarian development grades after interfering *Met* gene of *Mythimna separata* for 48 h



a和b分别代表注射siRNA-2和无RNA酶水的黏虫的卵巢

The letters a, b indicate ovarian development after injection with siRNA-2 and ddH_2O

图 4　干扰黏虫 *Met* 基因 48 h 后黏虫成虫的卵巢发育

Fig. 4　Ovarian development of *Mythimna separata* adult after interfering *Met* gene for 48 h

2.3　*Met* 基因干扰对黏虫生殖和寿命的影响

如图 5 所示,黏虫成虫的 *Met* 基因被沉默后,对黏虫的产卵前期有显著影响($F_{2,57}=4.756$, $P<0.05$),产卵前期与对照相比延长了 0.61 d,且差异显著;阴性对照与清水对照相比没有显著性差异。从表 3 可以看出,干扰成虫的 *Met* 基因后,对交配次数($F_{2,57}=1.307$, $P=0.261$)、雌虫寿命($F_{2,57}=2.355$, $P=0.103$)均无显著影响;但与清水对照相比,产卵量($F_{2,57}=7.467$, $P<0.05$)显著下降,产卵历期($F_{2,57}=5.880$, $P<0.05$)显著缩短(缩短了 0.78 d),交配率下降了 27 百分点。

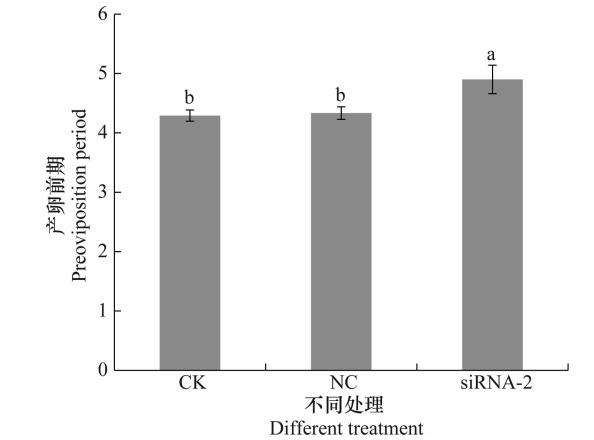


图 5　干扰黏虫成虫 *Met* 基因产卵前期的影响

Fig. 5　Effects of silencing *Met* gene of armyworm adult on the preoviposition period

表 3　干扰黏虫成虫 *Met* 基因对其产卵历期、产卵量、交配次数、交配率和雌虫寿命的影响

Table 3　Effects of silencing *Met* gene of armyworm adult on oviposition period, lifetime fecundity, mating frequency, mating percentage and longevity of *Mythimna separata* adults

处理 Treatment	产卵量/粒 Lifetime fecundity	产卵历期/d Oviposition period	交配次数/次 Mating frequency	交配率/% Mating percentage	雌虫寿命/d Female longevity
CK	(926.12±43.14)a	(7.08±0.12)a	(0.88±0.12)a	72	(11.25±0.21)a
NC	(915.62±50.16)a	(7.05±0.16)a	(0.77±0.13)a	68	(11.14±0.20)a
siRNA-2	(734.00±29.91)b	(6.30±0.25)b	(0.55±0.11)a	45	(11.75±0.20)a

3 讨论

在本研究中发现，干扰黏虫的 *Met* 基因 48 h 后，*Vg* 基因的表达量显著下调。有研究显示，鞘翅目赤拟谷盗 *Met* 基因被干扰后卵子发生受阻以及 *Vg* 的转录水平下调[5]，与本研究结果相符。此外，干扰雌性成虫的 *Met* 基因后，显著抑制了黏虫卵巢的发育和生殖。这与大猿叶虫 *Colaphellus bowringi* Baly 和褐飞虱 *Nilaparvata lugens* Stål 的相关研究相符，沉默大猿叶虫和褐飞虱的 *Met* 基因后都表现出卵巢发育迟缓，且褐飞虱的产卵前期显著延长，产卵量显著下降[27-28]。黏虫 *Met* 基因表达被抑制后，JH 不能与受体结合，JH 下游的信号传导受阻，抑制了 *Vg* 基因的表达，从而影响雌性个体的生殖和卵巢的发育。保幼激素(JH)的主要功能是促进 Vg 在雌性成虫脂肪体中的合成，Vg 分泌到血淋巴中，被卵母细胞吸收，从而促进卵巢的发育和成熟。正常的卵细胞生长依赖于卵母细胞大量摄取 Vg。因此，根据结果推断，在干扰黏虫的 *Met* 基因后，JH 的信号传导通路受阻，*Vg* 基因的转录受阻，表达量下降。卵母细胞由于不能摄取足够的 Vg，其发育和成熟受阻，从而抑制了卵巢的发育以及生殖。对飞蝗的研究发现，RNAi 抑制 *Met* 基因表达后，不仅阻止了 JH 诱导 *Vg* 的表达、阻断了卵巢发育和脂质沉积，而且影响卵泡上皮细胞的大小以及降低了卵泡细胞的通畅性(卵泡开放)，而卵泡细胞之间的细胞间空隙是将 Vg 转移到卵母细胞所必需的通道[17]。此外，JH 会影响 DNA 复制，RNAi 抑制 *Met* 表达后，降低了飞蝗脂肪体细胞的倍数性和 DNA 含量进而影响卵黄的形成和卵母细胞的成熟[29-30]。

干扰大猿叶虫 *Met* 基因后注射 JHA，发现 *Vg*1 和 *Vg*2 相对表达均显著下降[26]。在黏虫的前期研究中发现羽化后 1 日龄点滴保幼激素类似物后，可以缩短产卵前期，卵巢的发育进度显著加快[23]。因此，为进一步明确 Met 为 JHA 的受体，需要对 *Met* 基因干扰 48 h 后的初羽化黏虫点滴 JHA，测定对 *Vg* 基因表达量、卵巢发育以及产卵前期、产卵历期的影响。通过点滴 JHA 的试验结果进一步表明黏虫 JH 通过受体 *Met* 基因促进 *Vg* 基因的表达和卵巢的发育，从而进一步证实 Met 在黏虫生殖过程中的重要作用。通过一系列的结果中推断出 JH 的受体 *Met* 基因在黏虫生殖过程中对于 JH 的信号传导以及功能的发挥有至关重要的作用。然而，黏虫 Met 下游对卵黄生成作用以及卵母细胞成熟的分子调控机制仍不清楚。前期研究发现 C_2H_2 型锌指转录因子 Kr-h1 (Kruppel-homolog 1)是 Met 的直接靶标基因[31]。沉默蟑螂的 *Met* 基因后不仅使 Met mRNA 表达量显著下调，也使它下游的靶基因 *Kr-h*1 的转录水平显著降低[16]。沉默赤拟谷盗 Kr-h1 基因后出现了早熟蛹，这与 *Met* 基因和合成 JH 的甲基转移酶(JHAMT)下调的结果相似[32-33]。因此，为了完善黏虫 JH 下游卵黄发生和卵母细胞成熟的分子调控机制，需要进一步研究 Kr-h1 在黏虫生殖过程中的功能。

本研究发现干扰 *Met* 基因的表达后，阻碍了卵巢的发育和 *Vg* 基因的表达，抑制了生殖。因此，本研究结果表明 JH 通过与受体 Met 结合调控 *Vg* 的转录和卵巢的发育，进而影响生殖。本研究证明了 Met 在黏虫生殖中过程中的重要作用，对从生理和分子层面解析黏虫迁飞致灾的调控机理、提高预测预报和防控水平具有重要意义。

参考文献

[1] 万先萌，刘伟，魏洪义，等. 蛾类昆虫的生殖行为[J]. 生物灾害科学，2010，33(1)：3-7.

[2] WYATT G R，DAVEY K G. Cellular and molecular actions of juvenile hormone. II. Roles of juvenile hormone in adult insects [J]. Advances in Insect Physiology，1996，26(8)：1-155.

[3] TAUB-MONTEMAYOR T E，RANKIN M A. Regulation of vitellogenin synthesis and uptake in the boll weevil，*Anthonomus grandis* [J]. Physiological Entomology，2010，22(3)：261-268.

[4] COMAS D，PIULACHS M D，BELLÉS X. Induction of vitellogenin gene transcription *in vitro* by juvenile hormone in *Blattella germanica* [J]. Molecular and Cellular Endocrinology，2001，183(1/2)：93-100.

[5] PARTHASARATHY R，SUN Zhiyuan，BAI H，et al. Juvenile hormone regulation of vitellogenin synthesis in the red flour beetle，*Tribolium castaneum* [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology，2010，40(5)：405-414.

[6] KEELEY L L，MCKERCHER S R. Endocrine regulations of ovarian maturation in the cockroach，*Blaberus discoidalis* [J]. Comparative Biochemistry and Physiology，1985，80(1)：115-121.

[7] ZHANG J，MCCRACKEN A，WYATT G R. Properties and sequence of a female-specific，juvenile hormone-induced protein from locust hemolymph[J]. Journal of Biological Chemistry，1993，268(5)：3282-3288.

[8] GLINKA A V，WYATT G R. Juvenile hormone activation of gene transcription in locust fat body [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology，1996，26(1)：13-18.

[9] COMAS D，PIULACHS M D，BELLES X. Fast induction of vitellogenin gene expression by juvenile hormone III in the cockroach，*Blatella germanica* (L.) (Dictyoptera，Blattellidae)[J]. Insect Biochemistry & Molecular Biology，1999，29：821-827.

[10] KONOPOVA B, JINDRA M. Juvenile hormone resistance gene Methoprene-tolerant controls entry into metamorphosis in the beetle *Tribolium castaneum* [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2007, 104(25): 10488 - 10493.

[11] ABDOU M A, HE Qianyu, WEN Di, et al. *Drosophila* Met and Gce are partially redundant in transducing juvenile hormone action [J]. Insect Biochemistry & Molecular Biology, 2011, 41(12): 938 - 945.

[12] FABIAN J, WILSON K T. A *Drosophila melanogaster* mutant resistant to a chemical analog of juvenile hormone [J]. Developmental Biology, 1986, 118(1): 190 - 201.

[13] LI Meng, MEAD E A, ZHU Jinsong. Heterodimer of two bHLH-PAS proteins mediates juvenile hormone-induced gene expression [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2011, 108(2): 638 - 643.

[14] ZOU Zhen, SAHA T T, ROY S, et al. Juvenile hormone and its receptor, methoprene-tolerant, control the dynamics of mosquito gene expression [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2013, 110(24): E2173-E2181.

[15] GUJAR H, PALLI S R. Juvenile hormone regulation of female reproduction in the common bed bug, *Cimex lectularius* [J]. Scientific Reports, 2016, 6: 35546.

[16] MARCHAL E, HULT E F, HUANG J, et al. Methoprene-tolerant (Met) knockdown in the adult female cockroach, *Diploptera punctata* completely inhibits ovarian development [J/OL]. PLoS ONE, 2014, 9(9): e106737.

[17] SONG Jiasheng, WU Zhongxia, WANG Zhiming, et al. Krüppel-homolog 1 mediates juvenile hormone action to promote vitellogenesis and oocyte maturation in the migratory locust [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2014, 52: 94 - 101.

[18] 李光博. 粘虫发生规律和防治策略[M]//中国植物保护科学. 北京: 科学出版社, 1961: 446 - 466.

[19] 江幸福, 罗礼智. 黏虫迁出与迁入种群的行为和生理特性比较[J]. 昆虫学报, 2005, 48(1): 61 - 67.

[20] JIANG Xingfu, LUO Lizhi, ZHANG Lei, et al. Regulation of migration in the oriental armyworm, *Mythimna separata* (Walker) in China: A review integrating environmental, physiological, hormonal, genetic, and molecular factors [J]. Environmental Entomology, 2011, 40(3): 516 - 533.

[21] 李克斌, 曹雅忠, 罗礼智, 等. 飞行对黏虫体内甘油酯积累与咽侧体活性的影响[J]. 昆虫学报, 2005, 48(2): 155 - 160.

[22] LUO Lizhi, LI Kebin, JIANG Xingfu, et al. Regulation of flight capacity and contents of energy substances by methoprene in the moths of oriental armyworm, *Mythimna separata* [J]. Insect Science, 2001, 8(1): 63 - 72.

[23] 程李莉. 飞行影响生殖中的保幼激素相关调控机制[M]. 北京: 中国农业科学院, 2017.

[24] 张蕾, 罗礼智, 江幸福. 一日龄饥饿对粘虫成虫卵巢发育和飞行能力的影响[J]. 昆虫学报, 2006, 49(6): 895 - 902.

[25] 李柯, 阴环, 奚耕思, 等. 粘虫 β-*actin* 基因 cDNA 的克隆、序列分析及表达量检测[J]. 昆虫知识, 2010, 47(6): 1089 - 1094.

[26] 王玲, 江幸福, 罗礼智, 等. 黏虫类钙黏蛋白基因的克隆、序列分析及时空表达[J]. 昆虫学报, 2011, 54(10): 1094 - 1103.

[27] 姚云, 王博, 蒋建茹, 等. *Met* 和 *Kr-h*1 基因在褐飞虱变态发育中的功能分析[J]. 昆虫学报, 2015, 58(11): 1151 - 1159.

[28] 李医. 保幼激素耐受蛋白在大猿叶虫生殖和滞育中的功能研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2016.

[29] GUO Wei, WU Zhongxia, SONG Jiasheng, et al. Juvenile hormone-receptor complex acts on *Mcm*4 and *Mcm*7 to promote polyploidy and vitellogenesis in the migratory locust [J/OL]. PLoS Genetics, 2014, 10(10): e1004702.

[30] WU Zhongxia, GUO Wei, XIE Yingtian, et al. Juvenile hormone activates the transcription of cell-division-cycle 6 (Cdc6) for polyploidy-dependent insect vitellogenesis and oogenesis [J]. Journal of Biological Chemistry, 2016, 291(10): 5418 - 5427.

[31] SHIN S W, ZOU Zhen, SAHA T T, et al. bHLH-PAS heterodimer of methoprene-tolerant and cycle mediates circadian expression of juvenile hormone-induced mosquito genes [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2012, 109(41): 16576 - 16581.

[32] MINAKUCHI C, NAMIKI T, SHINODA T. Krüppel homolog 1, an early juvenile hormone-response gene downstream of methoprene-tolerant, mediates its anti-metamorphic action in the red flour beetle *Tribolium castaneum* [J]. Development Biology, 2009, 325(2): 341 - 350.

[33] MINAKUCHI C, NAMIKI T, YOSHIYAMA M, et al. RNAi-mediated knockdown of juvenile hormone acid O-methyltransferase gene causes precocious metamorphosis in the red flour beetle *Tribolium castaneum* [J]. FEBS Journal, 2008, 275(11): 2919 - 2931.

（责任编辑：田　喆）

（上接 86 页）

[7] 刘杰, 姜玉英, 李虎, 等. 草地贪夜蛾为害甘蔗初报[J]. 中国植保导刊, 2019, 39(6): 35 - 36.

[8] 郭井菲, 赵建周, 何康来, 等. 警惕危险性害虫草地贪夜蛾入侵中国[J]. 植物保护, 2018, 44(6): 1 - 10.

[9] 郭井菲, 何康来, 王振营. 草地贪夜蛾的生物学特性、发展趋势及防控对策[J]. 应用昆虫学报, 2019, 56(3): 361 - 369.

[10] 江幸福, 张蕾, 程云霞, 等. 草地贪夜蛾迁飞行为与监测技术研究进展[J]. 植物保护, 2019, 45(1): 12 - 18.

[11] PRASSANNA B M, HUESING J E, EDDY R, et al. Fall armyworm in Africa, A guide for integrated pest management [R]. Mexico, CDMX: CIMMYT, 2018.

[12] 赵胜园, 孙小旭, 张浩文, 等. 常用化学杀虫剂对草地贪夜蛾防效的室内测定[J]. 植物保护, 2019, 45(3): 10 - 14.

[13] 赵胜园, 杨现明, 孙小旭, 等. 常用生物农药对草地贪夜蛾的室内防效[J]. 植物保护, 2019, 45(3): 21 - 26.

[14] 徐进, 朱杰华, 杨艳丽, 等. 中国马铃薯病虫害发生情况与农药使用现状[J]. 中国农业科学, 2019, 52(16): 2800 - 2808.

（责任编辑：杨明丽）