

专 论 与 综 述

Reviews

昆虫谷氨酸门控氯离子通道研究进展

孟祥坤, 杨雪梅, 戈惠臣, 王建军*

(扬州大学园艺与植物保护学院, 扬州 225009)

摘要 谷氨酸门控氯离子通道(GluCl_s)介导快速抑制性神经传导,目前只发现于无脊椎动物中,是开发新型杀虫剂的理想作用靶标。GluCl_s属于半胱氨酸环超家族的配体门控离子通道,在昆虫中只发现有1个 α 亚基,但可以通过选择性剪接生成多种亚基剪接变体并且能够形成功能性受体。除了典型的神经传导功能外,GluCl_s还参与调控昆虫保幼激素合成及生长发育等生理功能。GluCl_s的氨基酸突变和表达量变化是导致昆虫对杀虫剂产生抗药性的部分原因。本文主要从GluCl_s的分子特征、选择性剪接、药理学性质、生理功能和昆虫的抗药性5个方面对昆虫GluCl_s的研究进展作一综述,为新型杀虫剂的研发提供理论基础。

关键词 谷氨酸门控氯离子通道; 分子特征; 选择性剪接; 药理学性质; 生理学功能; 昆虫抗药性

中图分类号: Q 966 **文献标识码:** A **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2019106

Research advances in insect glutamate-gated chloride channels

MENG Xiangkun, YANG Xuemei, GE Huichen, WANG Jianjun*

(College of Horticulture and Plant Protection, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract Glutamate-gated chloride channels (GluCl_s) mediate fast inhibitory neurotransmission in invertebrate nervous systems, and are of considerable interest in insecticide discovery. GluCl_s belong to the ligand-gated ion channels (LGICs) superfamily. Although only one α subunit was found in insects, a number of variants are generated by the alternative splicing of GluCl α subunit and form the functional GluCl_s receptors. In addition to the classical neurotransmission function, GluCl_s have been demonstrated to regulate the biosynthesis of juvenile hormone and the growth and development of insects. The mutation and changes of expression level of GluCl_s contributed to insecticide resistance in insects. This review introduced the research status of insect GluCl_s, including the molecular characteristics, alternative splicing, pharmacological properties, physiological function, relationships with insect resistance, and provide the basis for the development of new insecticides.

Key words GluCl_s; molecular characteristic; alternative splicing; pharmacological property; physiological function; insect resistance

谷氨酸是脊椎动物和无脊椎动物神经系统中主要的神经传递递质,作用于细胞膜上的谷氨酸受体,在脊椎动物中通过门控阳离子通道介导兴奋性传递。而在无脊椎动物中谷氨酸既是兴奋性的神经递质,又是抑制性的神经递质^[1]。哺乳动物中,谷氨酸受体可分为离子型和代谢型两种类型。其中离子型受体包括 *N*-甲基-*D*-天冬氨酸受体(NMDAR)、海人藻酸受体(KAR)和 α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑

受体(AMPA),它们与离子通道偶联形成受体通道复合物,介导信号传导^[2]。代谢型谷氨酸受体属于G蛋白偶联受体,这类受体被激活后通过G蛋白效应酶、第二信使等组成的信号转导系统起作用,产生相应的生理反应^[3]。此外,在无脊椎动物中还发现一种离子型抑制性谷氨酸受体(inhibitory glutamate receptors, iGluRs),谷氨酸作为抑制性的神经递质与此类受体结合进一步开启氯离子通道,

收稿日期: 2019-03-06

修订日期: 2019-04-04

基金项目: 国家自然科学基金青年基金(31701807);江苏省自然科学基金青年基金(BK20170491)

* 通信作者 E-mail: wangjj@ yzu. edu. cn

因此这类受体也被称为谷氨酸门控氯离子通道 (glutamate-gated chloride channels, GluCl α)^[1]。在昆虫神经系统的杀虫剂靶标中, GluCl α 只在线虫、昆虫等无脊椎动物神经和肌肉细胞中被发现, 在脊椎动物中尚未发现。因此, 昆虫 GluCl α 是开发高选择性杀虫剂的一个理想作用靶标^[4-5]。目前作用于昆虫 GluCl α 的杀虫剂主要有大环内酯类杀虫剂伊维菌素、阿维菌素和苯基吡唑类杀虫剂氟虫腈等。

1 GluCl α 的分子特征

GluCl α 与烟碱型乙酰胆碱受体 (nAChRs)、5-羟色胺 (5-HT) 受体及 γ -氨基丁酸 (GABA) 受体均是属于半胱氨酸环超家族的配体门控离子通道, 它们具有相似的结构特征, 都是由 5 个亚基组成的五聚体跨膜蛋白, 蛋白中包括激动剂/竞争性抑制剂结合位点和跨膜通道等结构^[6]。每个亚基从 N 端到 C 端可以分为 4 个区域: 即包含配体结合区的 N 端亲水区、3 个跨膜片段 (TM1~TM3) 组成的疏水区、长度可变的胞内亲水大环和包括第 4 个跨膜片段 TM4 在内的 C 端疏水区^[7]。其中, 5 个亚基的第 2 个跨膜片段 TM2 共同组成受体的离子通道。根据受体亚基组成的异同, 可分为 5 个亚基相同的同型五聚体和亚基不同的异型五聚体。GluCl α 与其他配体门控氯离子通道具有密切关系, GluCl α 与 γ -氨基丁酸受体在生理功能和药理特性上最为类似, 但其氨基酸序列却与甘氨酸受体相似性最高^[8-9]。

GluCl 受体基因最早于秀丽隐杆线虫 *Caenorhabditis elegans* 中被克隆发现, 在线虫中共克隆到 6 个 GluCl 受体亚基, 包括 4 个 α 亚基, 1 个 β 亚基以及 1 个可能的 γ 亚基^[10-11]。但目前在昆虫中只发现 1 个 GluCl 受体亚基, 即 α 亚基。首个昆虫 GluCl 受体亚基在黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 中被克隆, 与秀丽隐杆线虫的 GluCl α 和 β 亚基具有很高相似性, 在核苷酸水平相似性高达 67% 和 62%, 因此被命名为 DmGluCl α 亚基^[12]。随后 GluCl α 亚基在其他一些昆虫, 如赤拟谷盗 *Tribolium castaneum*、家蝇 *Musca domestica*、意大利蜜蜂 *Apis mellifera* 中被鉴定发现, 它们同

DmGluCl α 亚基的氨基酸相似性高达 80%~90%^[13]。昆虫 GluCl α 亚基在 4 个重要的 TM 跨膜区氨基酸序列一致性极高, 主要的序列变异区域在 TM3 和 TM4 间的胞内环中。胞内环中包含若干不同的蛋白激酶磷酸化位点, 在决定亚基的功能上起重要作用^[14]。

2 GluCl 的选择性剪接

选择性剪接是指从一个 mRNA 前体通过不同的剪接方式 (选择不同的剪接位点) 产生不同的 mRNA 剪接变体的过程。目前, 已发现在黑腹果蝇、赤拟谷盗、家蚕 *Bombyx mori*、意大利蜜蜂、家蝇、灰飞虱 *Laodelphax striatellus*、小菜蛾 *Plutella xylostella* 和西花蓟马 *Frankliniella occidentalis* 等多种昆虫中均存在不同的 GluCl α 亚基剪接变体^[4, 6, 15-20]。昆虫 GluCl α 亚基由 10 个外显子组成, 可通过氨基酸缺失、互斥外显子、外显子跳跃、3' 选择性剪接和内含子保留 5 种方式生成不同的亚基剪接变体, 而发生在外显子 3 和 9 中的选择性剪接则是昆虫 GluCl 的研究热点^[20]。外显子 3 选择性剪接普遍存在于昆虫 GluCl 中, 编码部分 N 端区域, 紧邻配体结合区 Loop D 上游^[21]。GluCl 外显子 3 选择性剪接可生成 3 种不同的 GluCl 剪接变体 (GluCl 3A、GluCl 3B 和 GluCl 3C); 此外在家蚕和小菜蛾中还发现一种完全缺失外显子 3 的 GluCl 剪接变体^[20, 22]。相对于外显子 3, 目前关于昆虫 GluCl 外显子 9 选择性剪接的研究较少。GluCl 外显子 9 选择性剪接位于 TM3 和 TM4 之间的胞内大环中, 其选择性剪接造成不同数目的氨基酸缺失, 从而产生不同的 GluCl 剪接变体 (GluCl 9A、GluCl 9B 和 GluCl 9C)^[18-20, 23-25]。GluCl 选择性剪接不但可以单独发生在外显子 3 或外显子 9 中, 还可以同时在 2 个外显子中发生, 进一步丰富昆虫 GluCl 亚基的多样性^[19, 21]。

对昆虫 GluCl 不同选择性剪接变体的表达定位分析发现, 不同 GluCl 剪接变体在昆虫不同部位的表达丰度存在差异^[19, 21]。通过精细免疫定位对意大利蜜蜂中 GluCl α 亚基剪接变体在脑中的分布进行分析, 发现 3 个亚基在蜜蜂脑的不同部位均有表达, 其中 GluCl 3A 主要分布于神经纤维网, GluCl 3B

则主要分布于细胞体^[15]。不同亚基在一些部位的共同表达说明它们可能组成异型五聚体,而在一些部位的差异表达也预示着它们可能具有不同的生理功能。对家蝇的3个GluCl亚基剪接变体研究发现,它们在家蝇不同组织及不同发育龄期的表达量各不相同,其中GluCl 3A和GluCl 3B主要在家蝇成虫的头部组织中表达,而GluCl 3C则主要在成虫的足等外周组织中表达^[17]。目前在灰飞虱中已发现由外显子3和外显子9选择性剪接产生的6种GluCl亚基,这些剪接变体都在灰飞虱头部组织中具有最高的表达量并且随着灰飞虱的生长发育剪接变体的表达量均逐渐上升^[19]。在鳞翅目昆虫二化螟*Chilo suppressalis*中,3个外显子3剪接变体均在神经索和脑组织中高表达,相对于GluCl 3A和GluCl 3C,GluCl 3B在二化螟中枢神经组织中的表达量更高^[21]。不同于在灰飞虱中的发现,随着二化螟的生长发育,3个外显子3剪接变体的表达量在幼虫期间均逐渐下降,在蛹期间逐渐增加。此外,GluCl 3C在二化螟表皮和肠道组织中同样具有很高的表达量,并且在二化螟蛹后期表达量显著增加^[21]。这些结果表明,昆虫GluCl剪接变体主要在神经组织中表达,在一些非神经组织如足、表皮和肠道中也具有较高的表达量,但在不同昆虫中其表达模式可能不同。

3 GluCl的药理学性质

利用电生理技术对昆虫神经元细胞中的GluCl研究发现,昆虫中至少存在2种药理学性质不同的GluCl受体^[26-29]。例如,在美洲大蠊*Periplaneta americana*神经元中发现2种GluCl,它们对激动剂鹅膏蕈氨酸及阻断剂木防己苦毒素表现出不同的敏感性^[28-29]。在意大利蜜蜂和飞蝗*Locusta migratoria*的神经元细胞中同样发现2种能被谷氨酸引发不同电流的GluCl,并且氟虫腈对2种受体的抑制效果也不同^[26-27,30]。此外,对意大利蜜蜂触角叶细胞的研究发现,谷氨酸能够引发一种短暂的和一种持续的反应电流;GluCl能被氟虫腈和木防己苦毒素抑制,并且受体对木防己苦毒素表现出不同的反应电流,这也说明在意大利蜜蜂触角叶细胞中同样存在2种不同的GluCl^[26,31]。对线虫

的研究表明,亚基组成不同可导致受体药理学性质的差异^[32-33],但目前在昆虫中只发现1个GluCl亚基,推测昆虫的GluCl可能由GluCl α 通过选择性剪接产生的不同亚基组成,从而具有不同的药理学性质^[24]。

利用体外表达及电生理学的方法,对昆虫GluCl不同剪接变体的药理学性质测定发现,不同GluCl剪接变体组成的受体对激动剂或抑制剂的敏感性存在差异。单独或共表达3个外显子3剪接变体组成的家蝇GluCl对激动剂谷氨酸和伊维菌素的敏感性相同,但对阻断剂氟虫腈和木防己苦毒素的敏感性却不同,说明家蝇3个GluCl亚基剪接变体具有不同的药理学性质^[17]。对小菜蛾GluCl的研究发现,单独或共同表达3个外显子9剪接变体组成的GluCl对谷氨酸的敏感性几乎相同,但对阿维菌素和氟虫腈的敏感性却不同^[20]。这些研究结果说明昆虫GluCl的外显子3和外显子9选择性剪接都能够生成功能性的GluCl,但可能具有不同的药理学性质。但对灰飞虱GluCl外显子9剪接变体的研究发现,分别表达的2个剪接变体组成的GluCl对谷氨酸、氟虫腈和木防己苦毒素具有相似的 EC_{50} 和 IC_{50} 值,这可能是由于2个剪接变体的配体结合区域具有相似的氨基酸^[19]。此外,由于单个亚基剪接变体体外表达就能生成功能性GluCl,目前尚不明确昆虫体内GluCl是同聚体还是由 α 亚基的不同剪接变体形成的异聚体。

4 GluCl的生理功能

GluCl主要分布于无脊椎动物的中枢神经和神经肌肉连接处。对线虫的研究发现,GluCl除了具有典型的神经兴奋传递功能外,还能够调节线虫的运动、取食、信号感知和繁殖^[11,34]。昆虫中,GluCl作为杀虫剂靶标的离子通道功能已被广泛研究,同时其他的生理功能也逐渐被发现。对意大利蜜蜂的研究中,通过注射GluCl抑制剂能够影响蜜蜂的嗅觉记忆和对刺激的感知,使用伊维菌素和氟虫腈处理蜜蜂则能够破坏蜜蜂的长期记忆^[31,35-37]。意大利蜜蜂GluCl α 亚基被干扰后,能够破坏其嗅觉记忆的恢复^[38]。当分别沉默不同的GluCl亚基剪接变体后,则能够影响蜜蜂对不同气味的嗅觉记忆恢

复^[39]。对太平洋折翅蠅 *Diploptera punctata* 咽侧体的研究发现,当使用 GluCls 激动剂鹅膏蕈氨酸、伊维菌素或谷氨酸处理腺体后,能够降低保幼激素的合成量;继续使用 GluCls 阻断剂木防己苦毒素处理,则能够使保幼激素含量恢复到正常水平;不同浓度的激动剂或阻断剂对保幼激素合成的影响也各不相同^[40]。鉴于兴奋性的离子型谷氨酸受体如 *N*-甲基-*D*-天冬氨酸受体、海人藻酸受体等同样能够影响太平洋折翅蠅咽侧体中保幼激素的合成,推测不管是抑制性还是兴奋性的谷氨酸受体,都可能是通过改变咽侧体细胞内钙离子的浓度来进一步影响保幼激素的合成^[41-42]。另一方面,不同龄期的蜜蜂体内保幼激素含量的不同能够影响蜜蜂嗅觉记忆和行为,说明 GluCls 在生物体内的生理功能可能存在内在联系^[43-44]。

此外,研究还发现 GluCls 能够调控飞蝗和果蝇的飞行、静止和唤醒行为,调节果蝇对光的逃避和嗅觉行为^[30,45-47]。昆虫 GluCl 被干扰后,谷实夜蛾 *Helicoverpa zea* 卵的孵化率降低,二化螟幼虫体重和化蛹率显著下降,说明 GluCls 在昆虫的生长发育过程中具有重要功能^[21,48]。不同 GluCl 剪接变体在昆虫不同组织中的差异表达,也可能预示着 GluCl 剪接变体具有不同的生理功能^[21]。这些研究说明,昆虫 GluCls 具有功能多样性,但不同 GluCl 剪接变体的具体功能,GluCls 在昆虫生理功能之间的联系以及如何影响保幼激素的合成进而影响昆虫的生长发育还有待进一步探索。

5 GluCls 与昆虫抗药性

目前,关于杀虫剂作用靶标 GluCls 与昆虫抗药性关系的研究主要集中在大环内酯类杀虫剂阿维菌素和伊维菌素。已经明确 GluCls 突变是导致昆虫、螨类对阿维菌素和伊维菌素产生抗药性的主要原因。DmGluCl 的 P299S 突变造成果蝇对伊维菌素产生 3 倍的抗药性^[49]。位于 TM3 跨膜区的 TuGluCl1 G323D 和 TuGluCl3 G326E 突变分别导致二斑叶螨 *Tetranychus urticae* 对阿维菌素产生了 18 倍和 2 000 倍的抗药性^[50-52]。同样位于 GluCl TM3 跨膜区的 A309V 突变则导致小菜蛾对阿维菌素产生了 10 倍的抗药性^[25]。电生理试验同样证明

了小菜蛾 GluCl 的 A309V 和 G315E(分别对应于 TuGluCl1 G323D 和 TuGluCl3 G326E)突变可致体外表达的受体对阿维菌素的敏感性分别下降 4.8 倍和 493 倍^[53]。近期的一项研究发现,GluCls 中的 A251V、S46P 和 H272R 突变在对伊维菌素具有抗药性的头虱 *Pediculus humanus capitis* 中具有较高的突变频率,可能是导致头虱对伊维菌素产生抗药性的部分原因^[54]。

越来越多的研究证明,杀虫剂靶标的表达量变化影响昆虫对杀虫剂的敏感性。乙酰胆碱酯酶(AChEs)编码基因 *ace* 在对有机磷杀虫剂抗性麦二叉蚜 *Schizaphis graminum* 中的表达量是敏感性试虫中的 1.5 倍,而在对氧化乐果有抗药性的棉蚜 *Aphis gossypii* 中却下调表达^[55-56]。鱼尼丁受体(RyRs)编码基因在对氟虫双酰胺抗性小菜蛾中的表达量是敏感品系中的 2.93 倍^[57]。对新烟碱类杀虫剂产生抗性的褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 和家蝇中,烟碱型乙酰胆碱受体(nAChRs)的亚基表达量显著下降^[58-59]。对阿维菌素抗性西花蓟马研究发现,虽然解毒代谢是导致抗药性的主要因素,但杀虫剂作用靶标的氨基酸变化和表达量改变也可能是造成抗药性的原因^[6,60]。通过对阿维菌素作用靶标的分析,没有发现相关的抗性突变,但 GluCl 在抗性西花蓟马中的表达量是敏感性西花蓟马中的 2.63 倍^[6]。在小菜蛾中同样发现,GluCl 在阿维菌素抗性品系中的表达量显著高于敏感品系^[61-62]。当 GluCl 被干扰后,二化螟幼虫对阿维菌素的敏感性显著上升^[21]。但在对烟粉虱 *Bemisia tabaci*、小菜蛾、黏虫 *Mythimna separata* 和朱砂叶螨 *Tetranychus cinabarinus* 的研究中发现,GluCl 被干扰后试虫对阿维菌素的敏感性降低^[63-66]。GluCls 在昆虫中具有多种生理功能,当被干扰后会对昆虫的生理状态产生多种负面作用,进而影响昆虫对杀虫剂的敏感性,这可能是导致 GluCls 在不同昆虫中研究结果有差异的原因。

6 结语

至今 GluCls 只在无脊椎动物中被发现,是一个理想的杀虫剂作用靶标。虽然对昆虫 GluCls 已有了较深入的研究,但仍有很多问题尚不清楚。

除了离子通道功能, GluCl_s 在昆虫中还有哪些具体的生理功能以及如何在这些生理功能中发挥作用? 昆虫 GluCl_s 只有一个 α 亚基, 却可以通过选择性剪接等生成多个剪接变体, 不同剪接变体各有哪些生理功能? 昆虫内源性 GluCl_s 是由单个剪接变体组成的同型五聚体还是由不同剪接变体组成的异型五聚体? 这些问题仍需要我们去探索解决。

害虫防治中作用于 GluCl_s 的药剂主要有伊维菌素、阿维菌素和氟虫腈等, 由于农药的不合理使用, 多种害虫已对这些杀虫剂产生抗药性, 急需新型替代药物。关于昆虫 GluCl_s 的研究, 不但可以为田间害虫抗性监测提供帮助, 同时也为新型高效高选择性杀虫剂的研发提供理论基础。

参考文献

- [1] CLELAND T A. Inhibitory glutamate receptor channels [J]. *Molecular Neurobiology*, 1996, 13(2): 97–136.
- [2] GASIC G P, HEINEMANN S. Receptors coupled to ionic channels: the glutamate receptor family [J]. *Current Opinion in Neurobiology*, 1991, 1(1): 20–26.
- [3] CONN P J, PIN J P. Pharmacology and functions of metabotropic glutamate receptors [J]. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 1997, 37: 205–237.
- [4] JONES A K, SATTELLE D B. The cys-loop ligand-gated ion channel gene superfamily of the red flour beetle, *Tribolium castaneum* [J/OL]. *BMC Genomics*, 2007, 8: 327.
- [5] WOLSTENHOLME A J. Glutamate-gated chloride channels [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2012, 287(48): 40232–40238.
- [6] MENG Xiangkun, XIE Zhijuan, ZHANG Nan, et al. Molecular cloning and characterization of GABA receptor and GluCl subunits in the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2018, 150: 33–39.
- [7] JONES A K. Genomics, cys-loop ligand-gated ion channels and new targets for the control of insect pests and vectors [J]. *Current Opinion in Insect Science*, 2018, 30: 1–7.
- [8] VASSILATIS D K, ELLISTON K O, PARESS P S, et al. Evolutionary relationship of the ligand-gated ion channels and the avermectin-sensitive, glutamate-gated chloride channels [J]. *Journal of Molecular Evolution*, 1997, 44(5): 501–508.
- [9] 吴青君, 张友军, 徐宝云. 抑制性谷氨酸受体 (IGluRs) 通道及其相关杀虫剂的作用 [J]. *农药学报*, 2008, 10(3): 251–259.
- [10] CULLY D F, VASSILATIS D K, LIU K K, et al. Cloning of an avermectin-sensitive glutamate-gated chloride channel from *Caenorhabditis elegans* [J]. *Nature*, 1994, 371(6499): 707–711.
- [11] LI Benwen, RUSH A C, WEIL G J. High level expression of a glutamate-gated chloride channel gene in reproductive tissues of *Brugia malayi* may explain the sterilizing effect of ivermectin on filarial worms [J]. *International Journal for Parasitology-Drugs and Drug Resistance*, 2014, 4(2): 71–76.
- [12] CULLY D F, WILKINSON H, VASSILATIS D K, et al. Molecular biology and electrophysiology of glutamate-gated chloride channels of invertebrates [J]. *Parasitology*, 1996, 113 (S1): S191–S200.
- [13] EGUCHI Y, IHARA M, OCHI E, et al. Functional characterization of *Musca* glutamate- and GABA-gated chloride channels expressed independently and coexpressed in *Xenopus oocytes* [J]. *Insect Molecular Biology*, 2006, 15(6): 773–783.
- [14] SIN S M, ENGELA G. Recent advances in Cys-loop receptor structure and function [J]. *Nature*, 2006, 440(7083): 448–455.
- [15] DEMARES F, RAYMOND V, ARMENGAUD C. Expression and localization of glutamate-gated chloride channel variants in honeybee brain (*Apis mellifera*) [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2013, 43(1): 115–124.
- [16] FURUTANI S, IHARA M, KAI K, et al. Okaramine insecticidal alkaloids show similar activity on both exon 3c and exon 3b variants of glutamate-gated chloride channels of the larval silkworm, *Bombyx mori* [J]. *Neurotoxicology*, 2017, 60: 240–244.
- [17] KITA T, OZOE F, OZOE Y. Expression pattern and function of alternative splice variants of glutamate-gated chloride channel in the housefly *Musca domestica* [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2014, 45: 1–10.
- [18] SEMENOV E P, PAK W L. Diversification of *Drosophila* chloride channel gene by multiple posttranscriptional mRNA modifications [J]. *Journal of Neurochemistry*, 1999, 72(1): 66–72.
- [19] WU Shunfan, MU Xichao, DONG Yaoyue, et al. Expression pattern and pharmacological characterisation of two novel alternative splice variants of the glutamate-gated chloride channel in the small brown planthopper *Laodelphax striatellus* [J]. *Pest Management Science*, 2017, 73(3): 590–597.
- [20] WANG Xingliang, O' REILLY A O, WILLIAMSON M S, et al. Function and pharmacology of glutamate-gated chloride channel exon 9 splice variants from the diamondback moth *Plutella xylostella* [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2019, 104: 58–64.
- [21] MENG Xiangkun, MIAO Lijun, GE Huichen, et al. Molecular characterization of glutamate-gated chloride channel and its

- possible roles in development and abamectin susceptibility in the rice stem borer, *Chilo suppressalis* [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2019, 155: 72–80.
- [22] FURUTANI S, IHARA M, NISHINO Y, et al. Exon 3 splicing and mutagenesis identify residues influencing cell surface density of heterologously expressed silkworm (*Bombyx mori*) glutamate-gated chloride channels [J]. Molecular Pharmacology, 2014, 86(6): 686–695.
- [23] LIU Feng, SHI Xiuzhen, LIANG Yanpo, et al. A 36-bp deletion in the alpha subunit of glutamate-gated chloride channel contributes to abamectin resistance in *Plutella xylostella* [J]. Entomologia Experimentalis et Applicata, 2014, 153(2): 85–92.
- [24] MEYERS J I, GRAY M, KUKLINSKI W, et al. Characterization of the target of ivermectin, the glutamate-gated chloride channel, from *Anopheles gambiae* [J]. Journal of Experimental Biology, 2015, 218(10): 1478–1486.
- [25] WANG Xingliang, WANG Ran, YANG Yihua, et al. A point mutation in the glutamate-gated chloride channel of *Plutella xylostella* is associated with resistance to abamectin [J]. Insect Molecular Biology, 2016, 25(2): 116–125.
- [26] BARBARA G S, ZUBE C, RYBAK J, et al. Acetylcholine, GABA and glutamate induce ionic currents in cultured antennal lobe neurons of the honeybee, *Apis mellifera* [J]. Journal of Comparative Physiology A-Neuroethology Sensory Neural and Behavioral Physiology, 2005, 191(9): 823–836.
- [27] NARAHASHI T, ZHAO Xiong, IKEDA T, et al. Glutamate-activated chloride channels: Unique fipronil targets present in insects but not in mammals [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2010, 97(2): 149–152.
- [28] RAYMOND V, SATTELLE D B, LAPIED B. Co-existence in DUM neurones of two GluCl channels that differ in their picrotoxin sensitivity [J]. Neuroreport, 2000, 11(12): 2695–2701.
- [29] ZHAO Xilong, YEY J Z, SALGADO V L, et al. Fipronil is a potent open channel blocker of glutamate-activated chloride channels in cockroach neurons [J]. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 2004, 310(1): 192–201.
- [30] JANSSEN D, DERST C, BUCKINX R, et al. Dorsal unpaired median neurons of *Locusta migratoria* express ivermectin- and fipronil-sensitive glutamate-gated chloride channels [J]. Journal of Neurophysiology, 2007, 97(4): 2642–2650.
- [31] EL HASSANI A K, DUPUIS J P, GAUTHIER M, et al. Glutamatergic and GABAergic effects of fipronil on olfactory learning and memory in the honeybee [J]. Invertebrate Neuroscience, 2009, 9(2): 91–100.
- [32] DEGANI-KATZAV N, GORTLER R, GORODETZKI L, et al. Subunit stoichiometry and arrangement in a heteromeric glutamate-gated chloride channel [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2016, 113(5): E644–E653.
- [33] HEUSSER S A, YOLUK O, KLEMENT G, et al. Functional characterization of neurotransmitter activation and modulation in a nematode model ligand-gated ion channel [J]. Journal of Neurochemistry, 2016, 138(2): 243–253.
- [34] YATES D M, PORTILLO V, WOLSTENHOLME A J. The avermectin receptors of *Haemonchus contortus* and *Caenorhabditis elegans* [J]. International Journal for Parasitology, 2003, 33(11): 1183–1193.
- [35] BOUMGHAR K, COURET-FAUVEL T, GARCIA M, et al. Evidence for a role of GABA- and glutamate-gated chloride channels in olfactory memory [J]. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 2012, 103(1): 69–75.
- [36] EL HASSANI A K, DACHER M, GAUTHIER M, et al. Effects of sublethal doses of fipronil on the behavior of the honeybee (*Apis mellifera*) [J]. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 2005, 82(1): 30–39.
- [37] EL HASSANI A K, GIURFA M, GAUTHIER M, et al. Inhibitory neurotransmission and olfactory memory in honeybees [J]. Neurobiology of Learning and Memory, 2008, 90(4): 589–595.
- [38] EL HASSANI A K, SCHUSTER S, DYCK Y, et al. Identification, localization and function of glutamate-gated chloride channel receptors in the honeybee brain [J]. European Journal of Neuroscience, 2012, 36(4): 2409–2420.
- [39] DEMARES F, DROUARD F, MASSOU I, et al. Differential involvement of glutamate-gated chloride channel splice variants in the olfactory memory processes of the honeybee *Apis mellifera* [J]. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 2014, 124: 137–144.
- [40] LIU H P, LIN S C, LIN C Y, et al. Glutamate-gated chloride channels inhibit juvenile hormone biosynthesis in the cockroach, *Diploptera punctata* [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2005, 35(11): 1260–1268.
- [41] CHIANG A S, LIN W Y, LIU H P, et al. Insect NMDA receptors mediate juvenile hormone biosynthesis [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2002, 99(1): 37–42.
- [42] CHIANG A S, PSZCZOLKOWSKI M A, LIU H P, et al. Ionotropic glutamate receptors mediate juvenile hormone synthesis in the cockroach, *Diploptera punctata* [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2002, 32(6): 669–678.
- [43] SULLIVAN J P, JASSIM O, FAHRBACH S E, et al. Juvenile hormone paces behavioral development in the adult worker honey bee [J]. Hormones and Behavior, 2000, 37(1): 1–14.
- [44] MALESZKA R, HELLIWELL P. Effect of juvenile hormone on

- short-term olfactory memory in young honeybees (*Apis mellifera*) [J]. *Hormones and Behavior*, 2001, 40(3): 403–408.
- [45] MCCARTHY E V, WU Ying, DECARVALHO T, et al. Synchronized bilateral synaptic inputs to *Drosophila melanogaster* neuropeptidergic rest/arousal neurons [J]. *Journal of Neuroscience*, 2011, 31(22): 8181–8193.
- [46] COLLINS B, KANE E A, REEVES D C, et al. Balance of activity between LN(v)s and glutamatergic dorsal clock neurons promotes robust circadian rhythms in *Drosophila* [J]. *Neuron*, 2012, 74(4): 706–718.
- [47] LIU W W, WILSON R I. Glutamate is an inhibitory neurotransmitter in the *Drosophila* olfactory system [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(25): 10294–10299.
- [48] WANG Jinda, GU Liuqi, KNIPPLE D C. Evaluation of some potential target genes and methods for RNAi-mediated pest control of the corn earworm *Helicoverpa zea* [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2018, 149: 67–72.
- [49] KANE N S, HIRSCHBERG B, QIAN S, et al. Drug-resistant *Drosophila* indicate glutamate-gated chloride channels are targets for the antiparasitics nodulisporic acid and ivermectin [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2000, 97(25): 13949–13954.
- [50] MERMANS C, DERMAUW W, GEIBEL S, et al. A G326E substitution in the glutamate-gated chloride channel 3 (GluCl3) of the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* abolishes the agonistic activity of macrocyclic lactones [J]. *Pest Management Science*, 2017, 73(12): 2413–2418.
- [51] DERMAUW W, ILIAS A, RIGA M, et al. The cys-loop ligand-gated ion channel gene family of *Tetranychus urticae*: Implications for acaricide toxicology and a novel mutation associated with abamectin resistance [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2012, 42(7): 455–465.
- [52] KWON D H, YOON K S, CLARK J M, et al. A point mutation in a glutamate-gated chloride channel confers abamectin resistance in the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch [J]. *Insect Molecular Biology*, 2010, 19(4): 583–591.
- [53] WANG Xingliang, PUINEAN A M, O'REILLY A O, et al. Mutations on M3 helix of *Plutella xylostella* glutamate-gated chloride channel confer unequal resistance to abamectin by two different mechanisms [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2017, 86: 50–57.
- [54] AMANZOUAGHENE N, FENOLLAR F, DIATTA G, et al. Mutations in GluCl associated with field ivermectin-resistant head lice from Senegal [J]. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2018, 52(5): 593–598.
- [55] GAO Jianrong, ZHU Kunyan. Increased expression of an acetylcholinesterase gene may confer organophosphate resistance in the greenbug, *Schizaphis graminum* (Homoptera: Aphididae) [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2002, 73(3): 164–173.
- [56] PAN Yiou, SHANG Qingli, FANG Kui, et al. Down-regulated transcriptional level of *Ace1* combined with mutations in *Ace1* and *Ace2* of *Aphis gossypii* are related with omethoate resistance [J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2010, 188(3): 553–557.
- [57] YAN Huihui, XUE Chaobin, LI Guangyue, et al. Flubendiamide resistance and Bi-PASA detection of ryanodine receptor G4946E mutation in the diamondback moth (*Plutella xylostella* L.) [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2014, 115: 73–77.
- [58] MARKUSSEN M D K, KRISTENSEN M. Low expression of nicotinic acetylcholine receptor subunit M α 2 in neonicotinoid-resistant strains of *Musca domestica* L. [J]. *Pest Management Science*, 2010, 66(11): 1257–1262.
- [59] ZHANG Yixi, WANG Xin, YANG Baojun, et al. Reduction in mRNA and protein expression of a nicotinic acetylcholine receptor 8 subunit is associated with resistance to imidacloprid in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* [J]. *Journal of Neurochemistry*, 2015, 135(4): 686–694.
- [60] CHEN Xuelin, YUAN Linze, DU Yuzhou, et al. Cross-resistance and biochemical mechanisms of abamectin resistance in the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2011, 101(1): 34–38.
- [61] 梁延坡. 小菜蛾对阿维菌素抗性的分子机制研究 [D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2009.
- [62] 柳峰. GluCl 受体在小菜蛾对阿维菌素抗性中的作用研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2011.
- [63] WANG Jinda, CHEN Lifei, LIN Dongjiang, et al. Molecular cloning, characterization and functional analysis of GluCl from the oriental armyworm, *Mythimna separata* Walker [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2019, 156: 56–62.
- [64] 施秀珍, 郭兆将, 朱勋, 等. 小菜蛾抑制性谷氨酸受体的 RNA 干扰 [J]. *昆虫学报*, 2012, 55(12): 1331–1336.
- [65] WEI Peiling, CHE Wunan, WANG Jinda, et al. RNA interference of glutamate-gated chloride channel decreases abamectin susceptibility in *Bemisia tabaci* [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2018, 145: 1–7.
- [66] XU Zhifeng, WU Qiong, XU Qiang, et al. Functional analysis reveals glutamate-gated chloride and γ -amino butyric acid channels as targets of avermectins in the carmine spider mite [J]. *Toxicological Sciences*, 2016, 155(1): 258–269.