

# 亚洲小车蝗响应高效氯氰菊酯胁迫的转录组及抗性相关基因分析



高海燕<sup>1</sup> 杨旭兵<sup>1</sup> 闫锋<sup>2</sup> 孙彦楠<sup>3</sup> 张玉<sup>1\*</sup> 高书晶<sup>1\*</sup>

(1. 中国农业科学院草原研究所, 农业农村部人工草地生物灾害监测与绿色防控重点实验室, 呼和浩特 010010;

2. 鄂尔多斯生态环境职业学院, 内蒙古鄂尔多斯 017010; 3. 鄂尔多斯市林业和草原事业发展中心, 内蒙古鄂尔多斯 017010)

**摘要:** 为筛选亚洲小车蝗 *Oedaleus asiaticus* 响应高效氯氰菊酯胁迫的抗性相关基因和代谢通路, 解析亚洲小车蝗对高效氯氰菊酯的抗性机制, 利用 Illumina Hiseq 4000 高通量测序平台对高效氯氰菊酯 ( $LD_{10}=0.008 \mu\text{g}/\text{头}$ ) 处理 48 h 前后的亚洲小车蝗 3 龄蝗蛹进行转录组测序, 采用 BLAST、edgeR 以及 Trinity 等生物信息学软件进行功能注释、差异表达基因分析及代谢通路分析。结果显示, 从亚洲小车蝗中共筛选到 743 个响应高效氯氰菊酯胁迫的差异表达基因, 包括 208 个上调基因和 535 个下调基因, 其中有 168 个差异表达基因显著富集到 GO 数据库的细胞组分、分子功能和生物学过程三大功能分类中, 162 个差异表达基因显著富集到 20 条不同的代谢通路中, 主要涉及核糖体、碳代谢、糖酵解/糖异生和氨基酸生物合成等代谢通路, 其中多个代谢通路与昆虫抗药性相关。进一步分析发现与昆虫抗药性相关的差异表达基因有 47 个, 包括编码谷胱甘肽 *S*-转移酶、乙醇脱氢酶、细胞色素 P450 基因家族、热激蛋白、羧酸酯酶、黏蛋白、多功能氧化酶以及羧基还原酶等蛋白的基因, 推测这些基因在亚洲小车蝗响应高效氯氰菊酯胁迫的过程中发挥了一定作用。

**关键词:** 亚洲小车蝗; 转录组; 高效氯氰菊酯; 抗药性; 差异表达

## Analysis of transcriptome and resistance-related genes induced by beta-cypermethrin in the grasshopper *Oedaleus asiaticus* (Orthoptera: Oedipodidae)

Gao Haiyan<sup>1</sup> Yang Xubing<sup>1</sup> Yan Feng<sup>2</sup> Sun Yannan<sup>3</sup> Zhang Yu<sup>1\*</sup> Gao Shujing<sup>1\*</sup>

(1. Key Laboratory of Biohazard Monitoring, Green Prevention and Control for Artificial Grassland, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; Institute of Grassland Research, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Hohhot 010010, Inner Mongolia Autonomous Region, China; 2. Ordos Vocational College of Eco-environment, Ordos 017010, Inner Mongolia Autonomous Region, China; 3. Ordos Forestry and Grassland Enterprise Development Center, Ordos 017010, Inner Mongolia Autonomous Region, China)

**Abstract:** This study aimed to identify resistance-related genes and metabolic pathways in *Oedaleus asiaticus* in response to beta-cypermethrin stress and elucidate the resistance mechanism of *O. asiaticus* to beta-cypermethrin. The 3rd instar nymphs of *O. asiaticus* were treated with beta-cypermethrin ( $LD_{10}=0.008 \mu\text{g}/\text{nymph}$ ) for 48 h. The transcriptome sequencing was performed on pre- and post-processing samples by using the Illumina Hiseq 4000 high-throughput sequencing platform. Functional annotation, differential expression gene (DEG) analysis, and metabolic pathway analysis were performed using bioinformatics tools BLAST, edgeR, and Trinity. The results revealed 743 DEGs in *O. asiaticus* af-

基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金(2021MS03021), 中央引导地方科技发展资金项目(2021ZY0041)

\* 通信作者 (Authors for correspondence), E-mail: zhangyu11@caas.cn, shujinggao688@163.com

收稿日期: 2023-06-13

ter treated with beta-cypermethrin, including 208 up-regulated genes and 535 down-regulated genes. Among them, 168 DEGs were significantly enriched in three functional categories (cell components, molecular functions and biological processes) in the GO database, while 162 DEGs were significantly enriched in 20 different metabolic pathways, which were mainly involved in the metabolic pathways such as ribosome, carbon metabolism, glycolysis, and amino acid biosynthesis, with several metabolic pathways related to insecticide resistance. Further analysis identified 47 DEGs related to insect resistance, including glutathione *S*-transferase, alcohol dehydrogenase, cytochrome P450 gene family, heat shock protein, carboxylesterase, mucin, multifunctional oxidase, and carbonyl reductase. These genes play a role in the resistance of *O. asiaticus* to beta-cypermethrin stress.

**Key words:** *Oedaleus asiaticus*; transcriptome; beta-cypermethrin; insecticide resistance; differential expression

在自然界中,蝗虫是种类最多、数量最大以及分布最广的生物类群,因其食性杂、暴发性强和发生范围广等特点,严重威胁着我国农林牧业的生产安全、生态安全以及经济社会的稳定发展(Basset et al., 2012;徐超民等,2021)。亚洲小车蝗 *Oedaleus asiaticus* 隶属于直翅目斑翅蝗科小车蝗属 *Oedaleus*, 是我国北方草原和农牧交错区的优势蝗虫之一,主要分布于内蒙古、甘肃以及青海等省区(李广等,2007; Cease et al., 2012)。亚洲小车蝗是一种杂食性害虫,喜食茅草 *Stipa capillata*、糙隐子草 *Cleistogenes squarrosa*、羊草 *Leymus chinensis* 和冷蒿 *Artemisia frigida* 等 12 种禾本科和莎草科植物(康乐和陈永林,1994;Huang et al., 2016)。

目前,我国已经制订了多种措施来监测和防控亚洲小车蝗,但仍主要依靠化学农药进行防治(涂雄兵等,2020)。高效氯氰菊酯作为草原蝗虫防治中常用杀虫剂之一,因其具有低毒、高效和实用性广等优点(孟凤霞等,2015),已被广泛用于多种草原蝗虫如亚洲小车蝗、黑腿星翅蝗 *Calliptamus barbarus* 以及宽须蚁蝗 *Myrmeleotettix palpalis* 等的防治(毛安妮等,2021;Zhang et al., 2022)。然而,由于化学农药的长期、高频、大量使用,导致蝗虫的抗药性问题逐渐凸显,抗性倍数从几倍提升至几百倍。如在内蒙古自治区(简称内蒙古)乌拉特中旗、四子王旗、正蓝旗和科尔沁左翼中旗 4 个地区的亚洲小车蝗种群对高效氯氰菊酯和溴氰菊酯的抗性倍数提升了约 2 倍(Dong et al., 2016);2010 年和 2013 年大垫尖翅蝗 *Epacromius coerulipes* 对高效氯氰菊酯和氰戊菊酯的抗性倍数分别从 5.52 倍和 4.24 倍提升到了 9.41 倍和 8.04 倍(金永玲等,2021);印度和巴基斯坦的 12 个柑橘木虱 *Diaphorina citri* 种群对联苯菊酯的抗性倍数高达 39.8~107.1 倍(Naeem et al., 2016);甜菜夜蛾

*Spodoptera exigua* 对三氟氯氰菊酯、氰戊菊酯和顺式氯氰菊酯的抗性倍数分别达到 522.9 倍、669.7 倍和 2 737.2 倍(兰亦全等,2006)。

昆虫对杀虫剂产生抗性是一种环境适应性现象,昆虫体内存在与抗药性相关的基因及控制杀虫剂进入、发挥作用或降解药效的相关通路(Brattsten et al., 1986;陈澄宇等,2015)。明确抗药性相关基因是监测和治理蝗虫抗药性的重要基础,多种解毒基因家族参与了昆虫的抗药性过程,包括细胞色素 P450 (cytochrome P450, CYP450)、谷胱甘肽 *S*-转移酶 (glutathione *S*-transferase, GST)、羧酸酯酶 (carboxylesterase, CarE)、ATP 结合盒转运体 (ATP-binding cassette transporter, ABC) 以及热激蛋白 (heatshock-protein, HSP) 等。蝗虫抗药性的产生过程有多种酶类家族参与,涉及多种特异性基因,而且新抗药性基因的发现也将拓展蝗虫抗药性监测与治理途径。近年来的研究表明,溴氰菊酯处理过的飞蝗 *Locusta migratoria* 体内 GST 基因高度差异表达,其中 *Lm-GSTd1* 基因可能在飞蝗抗药性机制中发挥着重要作用(Qin et al., 2011;2013;2014;Joußen et al., 2012)。

RNA 测序 (RNA sequencing, RNA-Seq) 是一种采用高通量测序技术对总 RNA 反转录合成的 cDNA 文库进行测序的技术,能揭示特定组织或细胞中全部转录本的表达基因和表达水平(崔凯等, 2019)。目前,该技术已被应用到多种昆虫抗药性相关基因的研究中,如褐飞虱 *Nilaparvata lugens* (Wang et al., 2009)、烟粉虱 *Bemisia tabaci* (Wang et al., 2010) 以及麦二叉蚜 *Schizaphis graminum* (王坚强等,2023) 等,批量、精准地鉴定了参与昆虫抗药性产生的关联基因和代谢途径,为进一步深入研究昆虫抗药性产生机制和抗药性治理奠定了的分子基础(Diao et al., 2011)。本研究利用 Illumina HiSeq

4000高通量测序平台对高效氯氰菊酯处理前后的亚洲小车蝗3龄蝗蛹进行转录组测序,分析差异表达基因,筛选亚洲小车蝗响应高效氯氰菊酯所涉及的抗药性相关基因和代谢通路,并通过实时荧光定量PCR(quantitative real-time PCR, qRT-PCR)技术对随机挑选的8个抗药性相关基因进行验证,以期为制订亚洲小车蝗绿色、高效、可持续的防治措施提供新思路,为指导和改善草原蝗虫的化学防治技术提供信息资源。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试虫源和植物:亚洲小车蝗于2021年7月初采自内蒙古乌兰察布市四子王旗天然草原,将采集的蝗蛹置于通风良好的50 cm×50 cm×50 cm纱网养虫笼内,饲养条件为昼夜温度(25±2)℃/(21±2)℃、相对湿度(40±5)%、光周期14 L:10 D,每笼60头,共2笼,饲养至3龄蝗蛹备用。每日早晚饲喂新鲜、无药剂和虫害污染的抽穗期羊草和三叶期小麦苗,并辅以少量麦麸。羊草品种为西乌珠穆沁,采自中国农业科学院沙尔沁农牧交错区试验科普示范基地;小麦品种为长丰2112,种子购自陕西长丰种业,在昼夜温度(25±2)℃/(21±2)℃、相对湿度(40±5)%、光周期14 L:10 D的条件下培养至3叶期供试。

药剂、试剂及仪器:98%高效氯氰菊酯(Beta cypermethrin)原药,河北阿尔泰药业有限公司。Easstep® Super Total RNA Extraction Kit,美国Promega公司;Hieff NGS Ultima Dual-mode mRNA Library Prep Kit for Illumina,翌圣生物科技(上海)股份有限公司;Qubit™ dsDNA HS Assay Kit,美国赛默飞世尔科技公司;2×*Taq* PCR Mix、TIANGel Midi核酸纯化试剂盒,天根生化科技(北京)有限公司;M-MuLV反转录酶、DNA聚合酶I,生工生物工程(上海)股份有限公司;2×SYBR Green Go *Taq*® QRT-PCR Master Mix,无锡百迈格生物科技有限公司;Agilent 2100 DNA 1000 Assay Kit,美国安捷伦科技有限公司;其他试剂均为国产分析纯。Eppendorf 5427R型离心机,德国艾本德股份公司;ETC811型PCR仪,东胜兴业科学仪器有限公司;Agilent 2100生物分析仪,美国安捷伦科技有限公司;Naodrop 2000型微量分光光度计,美国赛默飞世尔科技公司;Illumina Hiseq 4000高通量测序平台,美国Illumina公司;50 cm×50 cm×50 cm纱网养虫笼,自制。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 亚洲小车蝗cDNA文库构建和转录组测序

参照慕卫等(2003)方法略加改动。将高效氯氰菊酯原药溶于丙酮中配制成4.5%母液,采用微量注射器吸取2.5 μL亚致死剂量LD<sub>10</sub>为0.008 μg/头的高效氯氰菊酯对亚洲小车蝗3龄蝗蛹腹部进行点滴处理,每个处理点滴60头,以点滴等量丙酮处理作为对照,并设3次生物学重复。处理后的3龄蝗蛹在50 cm×50 cm×50 cm纱网养虫笼内继续饲养,饲养条件同1.1,48 h后分别进行随机取样,每个生物学重复取3头蝗蛹,将蝗蛹浸入液氮中速冻,利用Easstep® Super Total RNA Extraction Kit参照说明书分别提取其总RNA,质控合格后将样品于-80℃保存备用。

利用Hieff NGS Ultima Dual-mode mRNA Library Prep Kit for Illumina参照说明书进行亚洲小车蝗cDNA的文库构建,构建后的文库通过Qsep-400方法进行质检,以碱基质量值Q30达到85%为合格,用Qubit™ dsDNA HS Assay Kit对合格的cDNA文库的有效浓度进行精准定量,以确保文库质量。转录组测序工作基于合成边测序(sequencing by synthesis, SBS)技术,通过Illumina Hiseq 4000高通量测序平台对cDNA文库进行测序,测序工作委托北京百迈客生物科技有限公司完成。对测序得到的原始数据进行碱基质量值和碱基G+C含量的检测,确认样品数据污染情况。随后截除原始数据reads中的测序接头以及引物序列,过滤低质量值数据,获得高质量reads,即质控数据。

#### 1.2.2 亚洲小车蝗转录组测序数据组装和注释

利用Trinity 2.5.1软件(Grabherr et al., 2011)对1.2.1所得质控数据进行序列拼接与组装。过滤掉低表达的转录本,将高质量的reads打断为较短的片段,将这些小片段延伸成较长的片段,并利用这些片段之间的重叠得到片段集合,最后基于De Bruijn图的算法和测序reads信息,在各个片段集合中分别识别转录本序列,最终得到unigene。分别对转录本和unigene的总数、总长度、N50(占有所有单基因最大长度核苷酸序列的50%)和平均长度进行统计。使用BLAST软件(Altschul et al., 1997)将unigene序列分别与非冗余蛋白质序列(non-redundant protein sequence, NR)数据库、蛋白质注释信息序列(Swiss-Prot protein sequence, Swiss-Prot)数据库、基因本体(gene ontology, GO)数据库、同源蛋白簇(clusters of orthologous groups of proteins, COG)数据库、真核直系同源群(EuKaryotic orthologous groups, KOG)



数据库、同源蛋白家族(homologous protein family, Pfam)数据库、同源基因群(evolutionary genealogy of genes: non-supervised orthologous groups, eggNOG)数据库、京都基因和基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of genes and genomes, KEGG)数据库进行比对,要求  $E$  值  $\leq 1 \times 10^{-5}$ 。使用 KOBAS 2.0 软件(Xie et al., 2011)筛选得到 unigene 在 KEGG 数据库中的同源序列,利用 NovoPro 在线工具(<https://www.novopro.cn/tools/translate.html>)预测 unigene 的氨基酸序列,使用 HMMER 3.1b2 软件(Eddy, 1998)与 Pfam 数据库进行比对,要求  $E$  值  $\leq 1 \times 10^{-10}$ , 获得 unigene 的注释信息。

### 1.2.3 亚洲小车蝗差异表达基因的筛选分析

采用 edgeR 3.8.6 软件(Robinson et al., 2010)对亚洲小车蝗高效氯氰菊酯处理样品与对照样品间的差异表达基因进行分析,获得差异表达基因集。通过 Benjamin-Hochberg 方法对原有假设检验得到的显著性  $P$  值进行校正,并采用校正后的  $P$  值,即错误发现率(false discovery rate, FDR)作为差异表达基因筛选的关键指标,以降低对大量基因的表达值进行独立统计假设检验带来的假阳性。计算高效氯氰菊酯处理亚洲小车蝗的基因表达水平与对照的基因表达水平的差异变化倍数(fold change, FC),筛选  $FDR < 0.01$  且  $|\log_2 FC| > 2$  的基因为显著差异表达基因。利用 edgeR 3.8.6 软件中的 clusterProfiler 包对差异表达基因在 eggNOG、Pfam、NR、KOG、Swiss-Prot、COG、GO 和 KEGG 数据库中进行注释。

### 1.2.4 亚洲小车蝗抗药性相关基因的筛选

通过抗药性基因名称等关键词对本实验室获得的亚洲小车蝗转录组数据库进行搜索,如 GST、乙醇脱氢酶(alcohol dehydrogenase, ADH)、CYP450、黏蛋白(mucin, MUC)、CarE、HSP、碱性磷酸酶(al-

kaline phosphatase, ALP)、多功能氧化酶(mixed-functional oxidase, MFO)、ABC、氨基肽酶N(amino-peptidase N, APN)、细胞色素氧化酶(cytochrome oxidase, CYT)、甘油磷酸二酯磷酸二酯酶(glycerophosphodiester phosphodiesterase, GDE)和羰基还原酶(carbonylreductase, NADPH)等的编码基因(金剑雪, 2017),进一步从 1.2.3 获得的差异表达基因中筛选与害虫抗药性相关的候选基因。

### 1.2.5 亚洲小车蝗抗药性相关基因的表达趋势验证

为进一步验证转录组数据的准确性,从 1.2.4 筛选到的亚洲小车蝗响应高效氯氰菊酯胁迫的差异表达基因中随机挑选 8 个,包括 6 个上调表达的抗药性相关解毒酶基因(*HSP70*、*CYP3A7*、*CarE6*、*CYP6D1*、*GST7*、*MUC13*)和 2 个下调表达的抗药性相关解毒酶基因(*NADPH2*、*ADH1C*),通过 qRT-PCR 技术进行验证。使用 Primer Premier 5.0 软件设计目的基因和内参基因的特异性引物(表 1),以  $\beta$ -actin 为内参基因,内参基因的特异性引物参考 Zhou et al. (2019) 设计,所有引物均委托北京百迈客生物科技有限公司合成。以 1.2.1 高效氯氰菊酯处理组和对照组亚洲小车蝗样品测序的 cDNA 作为模板,每个样品进行 4 个技术重复和 3 个生物学重复。20  $\mu$ L 反应体系: GoTaq<sup>®</sup> qPCR Master Mix 10  $\mu$ L、cDNA 模板 1  $\mu$ L、10  $\mu$ mol/L 上下游引物各 0.4  $\mu$ L、ddH<sub>2</sub>O 8  $\mu$ L、参比荧光染料 CXR 0.2  $\mu$ L。反应程序: 95  $^{\circ}$ C 预变性 2 min; 95  $^{\circ}$ C 变性 3 s, 60  $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 40 个循环。熔解曲线: 95  $^{\circ}$ C 变性 15 s, 65  $^{\circ}$ C 退火 15 s, 95  $^{\circ}$ C 延伸 15 s。采用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  法计算目的基因的相对表达量(Livak & Schmittgen, 2001),分析其表达趋势;同时利用 Sigmaplot 12.5 软件将目的基因的相对表达量换算为  $\log_2 FC$ ,与目的基因的 RNA-Seq 分析趋势进行比较。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物

Table 1 Primers for real-time fluorescence quantification PCR

基因名 Gene name	正向引物(5'-3') Forward primer (5'-3')	反向引物(5'-3') Reward primer (5'-3')
<i>ADH1C</i>	TTTGGTGCCACTGTGAATGT	CTCCACCAGTCATCTCAGCA
<i>CYP3A7</i>	CTGGAAACTTTGGCTGCTTC	AGAATGTTCTCCTCGCCAAA
<i>CarE6</i>	ACCGTATTTTGCGAAGTTGG	CACCAGAGCCCGTCTTCTAC
<i>CYP6D1</i>	GCAGCAACTTTAGGCTGTCC	GAGGCAACAAGACACCCATT
<i>GST7</i>	CCCGTCATCCTCTATGAAA	AATACGCCACAATTGCATGA
<i>MUC13</i>	CAATCCCTCCACATCTGCTT	CCGGTCTTTGGATGTCAACT
<i>NADPH2</i>	TGATTAGCTCCGCAAAATTCT	AACAGCCGCAGATGTTATCC
<i>HSP70</i>	TCCTTGTTGGAGTCGAGCTT	ACTTTCGAGTTCAGGCTGA
$\beta$ -actin	CTACCACAGCCGAGCGAGAA	CCATCAGGCAGCTCGTAGGA

### 1.3 数据分析

使用SPSS 20.0软件对基因表达量进行统计分析,采用独立样本 $t$ 检验法进行差异显著性检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 亚洲小车蝗转录组测序及组装结果

共完成亚洲小车蝗6个样品的转录组测序,包括3个处理组和3个对照组,共获得38.48 Gb的质控数据,各样品质控数据均达到6.10 Gb, Q30均在

93.26%及以上, G+C含量分布在41.74%~43.83%之间,说明亚洲小车蝗转录组测序质量较高,数据可用于后续分析(表2)。组装后共获得102 341个转录本,总长度为149 048 834 bp,平均长度为1 456.39 bp, N50长度为2 496 bp;共获得58 276条unigene,总长度为65 210 605 bp,平均长度为1 119.00 bp, N50长度为1 980 bp(表3),转录本和unigene的N50长度均大于其平均长度,说明组装效果较好,可用于后续分析。

表2 高效氯氰菊酯处理后亚洲小车蝗转录组测序数据评估统计表

Table 2 Statistical analysis table of transcriptome sequencing data of *Oedaleus asiaticus* treated with beta-cypermethrin

样品 Sample	Read 总数 Read number	碱基质量值 Q30/%	G+C 含量 G+C content/%
处理组 1 Treatment group 1	21 789 777	94.18	43.83
处理组 2 Treatment group 2	21 010 905	93.67	43.18
处理组 3 Treatment group 3	21 620 684	93.96	42.43
对照组 1 Control group 1	22 586 528	93.73	41.74
对照组 2 Control group 2	20 355 203	93.26	42.24
对照组 3 Control group 3	21 103 655	94.04	42.92

处理组为点滴高效氯氰菊酯的样品,对照组为点滴丙酮的样品,1、2、3代表生物学重复; Q30: 质控数据质量值大于或等于30的碱基所占百分比。The treatment group is treated with beta-cypermethrin and the control group is treated with acetone. 1, 2 and 3 represent biological replicates; Q30: the percentage of bases with a mass value greater than or equal to 30.

表3 高效氯氰菊酯处理后亚洲小车蝗 unigene 组装结果统计表

Table 3 Statistical table of unigene assembly results of *Oedaleus asiaticus* treated with beta-cypermethrin

参数 Parameter	转录本 Transcript	单基因簇 unigene
300 bp<LR≤500 bp	31 558(30.84%)	25 027(42.95%)
500 bp<LR≤1 000 bp	25 799(25.21%)	15 188(26.06%)
1 000 bp<LR≤2 000 bp	21 057(20.58%)	9 057(15.54%)
LR>2 000 bp	23 926(23.38%)	9 003(15.45%)
总数 Total number	102 341	58 276
总长度 Total length/bp	149 048 834	65 210 605
N50 长度 N50 length/bp	2 496	1 980
平均长度 Mean length/bp	1 456.39	1 119.00

LR表示unigene的不同长度区间;括号外的数字表示相应长度区间内unigene数量,括号内的百分比表示相应长度区间内unigene所占比例。LR indicates the different length range of unigenes; the values outside parentheses indicate the number of unigenes in the corresponding interval, and the percentage in parentheses indicates the proportion of unigenes in the corresponding length interval.

### 2.2 亚洲小车蝗转录组注释结果

将组装得到的58 276个亚洲小车蝗unigene序列分别与NR、Swiss-Prot、GO、COG、KOG、KEGG、eggNOG和Pfam数据库进行比对,按照BLAST参数 $E$ 值 $\leq 1 \times 10^{-5}$ 和HMMER参数 $E$ 值 $\leq 1 \times 10^{-10}$ 的规则,最终获得27 964个有注释信息的unigene(表4),占unigene总数的47.99%。在eggNOG数据库注释成功的unigene数量最多,占unigene总数的42.14%,

其后依次是在NR、Pfam、KOG、Swiss-Prot、KEGG、GO和COG数据库注释成功的unigene数量,分别占unigene总数的40.25%、30.46%、27.30%、21.49%、17.00%、16.87%和12.56%(表4)。注释成功的unigene序列长度在[300, 1 000) bp区间的有15 703条,长度在1 000 bp及以上的有12 261条,说明本次测序数据的注释效果较好(表4)。

表4 高效氯氰菊酯处理亚洲小车蝗的 unigene 注释结果

Table 4 Unigene annotation results of *Oedaleus asiaticus* treated with beta-cypermethrin

数据库 Database	注释 unigene 数量 No. of unigenes annotated	所占比例 Percentage/%	300 bp≤长度<1 000 bp 300 bp≤length<1 000 bp	长度≥1 000 bp Length≥1 000 bp
COG	7 322	12.56	3 159	4 163
GO	9 834	16.87	4 528	5 306
KEGG	9 909	17.00	4 146	5 763
KOG	15 912	27.30	7 760	8 152
Pfam	17 751	30.46	8 015	9 736
Swissprot	12 522	21.49	5 177	7 345
eggNOG	24 559	42.14	13 351	11 208
NR	23 459	40.25	11 525	11 934
合计 Total	27 964	47.99	15 703	12 261

### 2.3 亚洲小车蝗的差异表达基因分析

通过比较高效氯氰菊酯处理组和对照组间亚洲小车蝗的差异表达基因,共鉴定到 743 个差异表达基因,包括 208 个上调基因和 535 个下调基因(图 1)。对上述 743 个差异表达基因进行功能注释,共有 522 个差异表达基因在 8 大数据库中成功获得了注释信息,其中在 eggNOG 数据库注释到的差异表达基因数量最多,有 474 条,其次依次是在 Pfam、NR、KOG、Swiss-Prot、COG、GO 和 KEGG 数据库中注释到的差异表达基因数量,分别有 406、397、273、236、176、168 和 162 条获得注释信息。在 NR 数据库中注释到亚洲小车蝗在高效氯氰菊酯胁迫后显著差异表达的 13 个基因(表 5)。

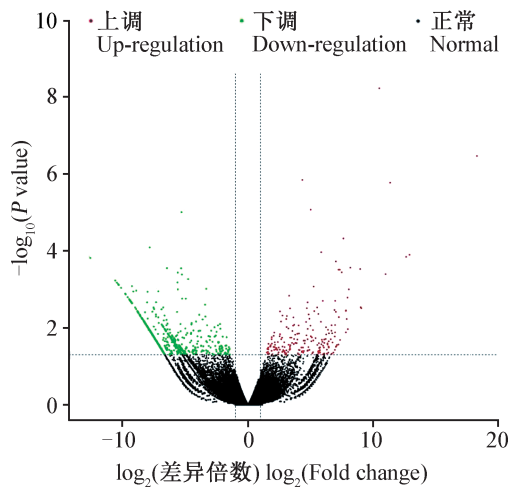


图1 高效氯氰菊酯处理后亚洲小车蝗3龄蝗蛹的差异表达基因火山图

Fig. 1 Volcano map of differential expression genes in the 3rd instar nymphs of *Oedaleus asiaticus* after beta-cypermethrin treatment

### 2.4 亚洲小车蝗 unigene 的 GO 分类

从差异表达基因在 GO 数据库的富集结果来

看,168 个差异表达基因显著富集到细胞组分、分子功能和生物学过程 3 大类共 39 个功能分类中,其中,注释到生物学过程的有 16 个,注释到细胞组分过程的有 13 个,注释到分子功能的有 10 个(图 2)。

### 2.5 亚洲小车蝗差异表达基因的 KEGG 富集通路分析

在 KEGG 数据库中获得注释的 162 个差异表达基因显著富集到 20 条不同的代谢通路中,主要涉及核糖体、碳代谢、糖酵解/糖异生、氨基酸生物合成、精氨酸和脯氨酸代谢以及丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢等代谢通路(图 3)。

### 2.6 亚洲小车蝗抗药性相关基因筛选结果

从亚洲小车蝗转录组中筛选与抗药性相关的基因,有 75 条注释为 CYP450,有 17 条注释为 GST,有 60 条注释为 CarE,其中 CYP450 基因占比较高,说明该酶在亚洲小车蝗降解高效氯氰菊酯的过程中具有重要作用,与该害虫的抗药性密切相关。从代谢通路进一步分析挖掘,有 47 个差异表达基因与亚洲小车蝗的抗药性相关,包括 6 个 CYP450、5 个 GST、1 个 CarE、3 个 MFO、1 个 MUC、7 个 HSP、23 个 NADH 和 1 个 ADH。

### 2.7 亚洲小车蝗差异表达基因的表达趋势验证

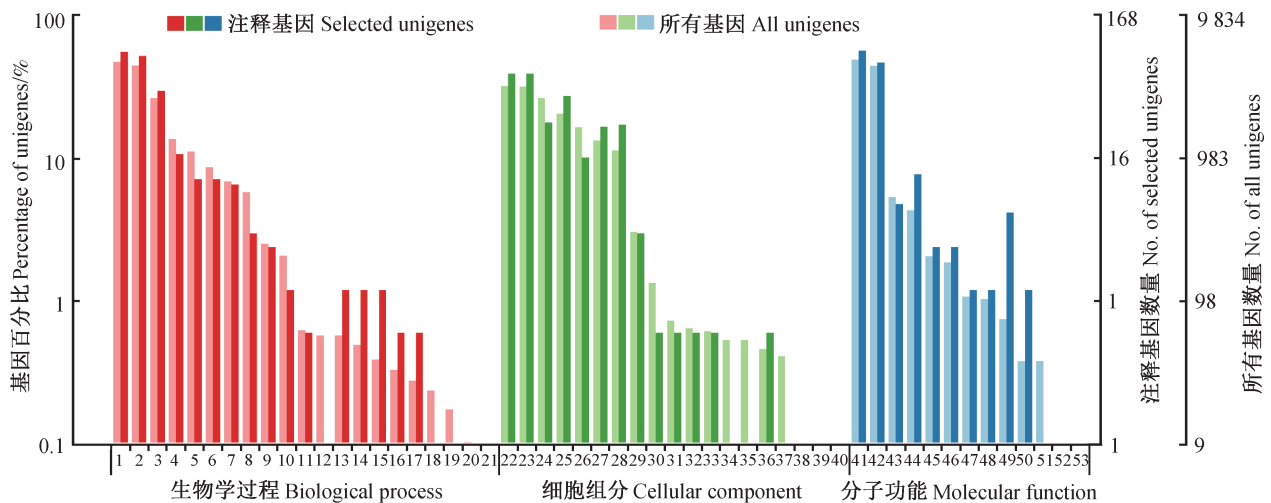
为验证转录组测序获得的差异基因数据真实性和可靠性,随机选取 8 个差异表达基因进行 qRT-PCR 验证,其中 6 个基因上调,2 个基因下调。结果表明,与对照组相比,这 8 个基因的表达趋势与 RNA-Seq 分析的表达趋势一致,说明本试验转录组测序结果可靠。对 qRT-PCR 验证数据与 RNA-seq 测序数据进行显著性分析,发现 2 种分析方法得到的 *GST7* 表达量差异极显著 ( $P < 0.01$ ), *CarE6*、*MUC13* 和 *NADPH2* 的表达量差异显著 ( $P < 0.05$ ),其余 4 个差异表达基因 *ADH1C*、*CYP3A7*、*HSP70* 和 *CYP6D1* 的表达量差异不显著(图 4)。

表5 在NR数据库中注释到的亚洲小车蝗响应高效氯氰菊酯胁迫后差异表达倍数最大的13个基因

Table 5 Top 13 differentially expressed genes of *Oedaleus asiaticus* after beta-cypermethrin stress are annotated in the NR database

基因编号 Gene ID	差异倍数对数值 $\log_2FC$	FDR	变化趋势 Variation trend	注释 Annotation
c130362.graph_c1	3.10	0.005	上调Up	谷胱甘肽S-转移酶 Glutathione S-transferase
c131609.graph_c0	-7.99	0.016	下调Down	乙醇脱氢酶 Alcohol dehydrogenase
c73151.graph_c0	-7.31	0.022	下调Down	细胞色素氧化酶 Cytochrome oxidase
c108597.graph_c0	5.51	0.012	上调Up	热激蛋白 Heats hock protein
c140819.graph_c1	-5.40	0.019	下调Down	羧酸酯酶 Carboxylesterase
c141057.graph_c0	5.96	0.008	上调Up	黏蛋白 Mucin
c130607.graph_c0	-4.66	0.042	下调Down	甘油磷酸二酯磷酸二酯酶 Glycerophosphodiester phosphodiesterase
c135877.graph_c0	-5.91	0.009	下调Down	羰基还原酶 Carbonylreductase
c122471.graph_c0	5.43	0.012	上调Up	细胞色素P450 CytochromeP450
c140986.graph_c0	-4.56	0.008	下调Down	羧酸酯酶 Carboxylesterase
c142017.graph_c1	5.97	0.010	上调Up	多功能氧化酶 Mixed-functional oxidase
c74449.graph_c0	4.41	0.011	上调Up	ATP结合盒转运体 ATP-binding cassette transporter
c74472.graph_c0	5.08	0.011	上调Up	碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase

FDR: 错误发现率。FDR<0.01且 $|\log_2FC|>2$ 者为显著差异表达基因。FDR: False discovery rate. The genes with FDR<0.01 and  $|\log_2FC|>2$  are identified as significantly differentially expressed genes.

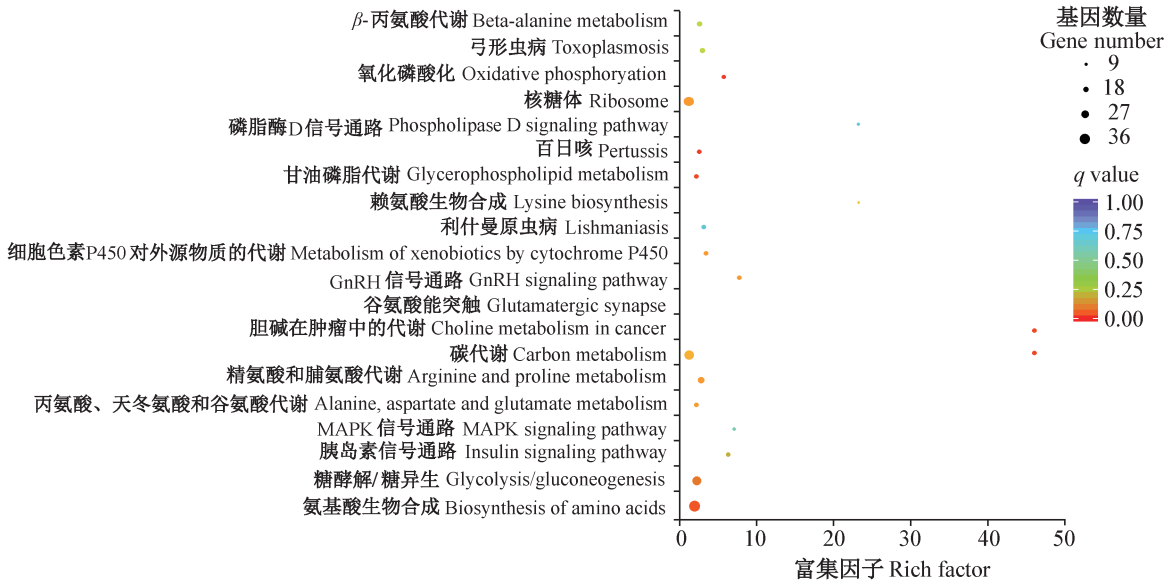


1: 代谢过程; 2: 细胞过程; 3: 单生物过程; 4: 生物调节; 5: 定位; 6: 刺激反应; 7: 细胞成分组织或生物发生; 8: 信号传递; 9: 多细胞生物过程; 10: 生长过程; 11: 多元组织过程; 12: 生殖; 13: 生物附着; 14: 生殖过程; 15: 解毒; 16: 运动; 17: 免疫系统过程; 18: 行为; 19: 生长; 20: 参与化学突触传递的突触前过程; 21: 节律过程; 22: 细胞; 23: 细胞组分; 24: 膜; 25: 膜组分; 26: 分子复合物; 27: 细胞器组分; 28: 膜包围腔; 29: 胞外区; 30: 超分子复合物; 31: 胞外区组分; 32: 突触; 33: 毒粒; 34: 毒粒组分; 35: 突触组分; 36: 细胞连接; 37: 拟核; 38: 其他有机体; 39: 其他有机体组分; 40: 催化活性; 41: 结合; 42: 转运活性; 43: 结构分子活性; 44: 信号传感器活性; 45: 分子传感器活性; 46: 分子功能调节器; 47: 核酸结合转录因子活性; 48: 电子载体活性; 49: 转录因子活性, 蛋白质结合; 50: 抗氧化活性; 51: 蛋白质标签; 52: 金属伴侣活性; 53: 翻译调控因子活性。  
1: Metabolic process; 2: cellular process; 3: single-organism process; 4: biological regulation; 5: localization; 6: response to stimulus; 7: cellular component organization or biogenesis; 8: signaling; 9: multicellular organismal process; 10: developmental process; 11: multi-organism process; 12: reproduction; 13: biological adhesion; 14: reproductive process; 15: detoxification; 16: locomotion; 17: immune system process; 18: behavior; 19: growth; 20: presynaptic process involved in chemical synaptic transmission; 21: rhythmic process; 22: cell; 23: cell part; 24: membrane; 25: membrane part; 26: macromolecular complex; 27: organelle part; 28: membrane-enclosed lumen; 29: extracellular region; 30: supramolecular complex; 31: extracellular region part; 32: synapse; 33: virion; 34: virion part; 35: synapse part; 36: cell junction; 37: nucleoid; 38: other organism; 39: other organism part; 40: catalytic activity; 41: binding; 42: transporter activity; 43: structural molecule activity; 44: signal transducer activity; 45: molecular transducer activity; 46: molecular function regulator; 47: nucleic acid binding transcription factor activity; 48: electron carrier activity; 49: transcription factor activity, protein binding; 50: antioxidant activity; 51: protein tag; 52: metallochaperone activity; 53: translation regulator activity.

图2 高效氯氰菊酯胁迫后亚洲小车蝗3龄蝗蛹unigene的GO分类图

Fig. 2 GO classification of unigenes in the 3rd instar nymphs of *Oedaleus asiaticus* after beta-cypermethrin stress





横轴为通路富集程度,数字越大说明在研究数据中该通路越显著;纵轴为差异表达基因显著富集到的代谢通路。Horizontal axis is the degree of enrichment of the pathway, the greater the number, the more significant the pathway in the research data; vertical axis is metabolic pathway significantly enriched by differentially expressed genes.

图3 高效氯氰菊酯胁迫后亚洲小车蝗3龄蝗蛹unigene显著富集的前20条KEGG通路

Fig. 3 Top 20 of KEGG pathway analysis of unigenes in the 3rd instar nymphs of *Oedaleus asiaticus* after beta-cypermethrin stress

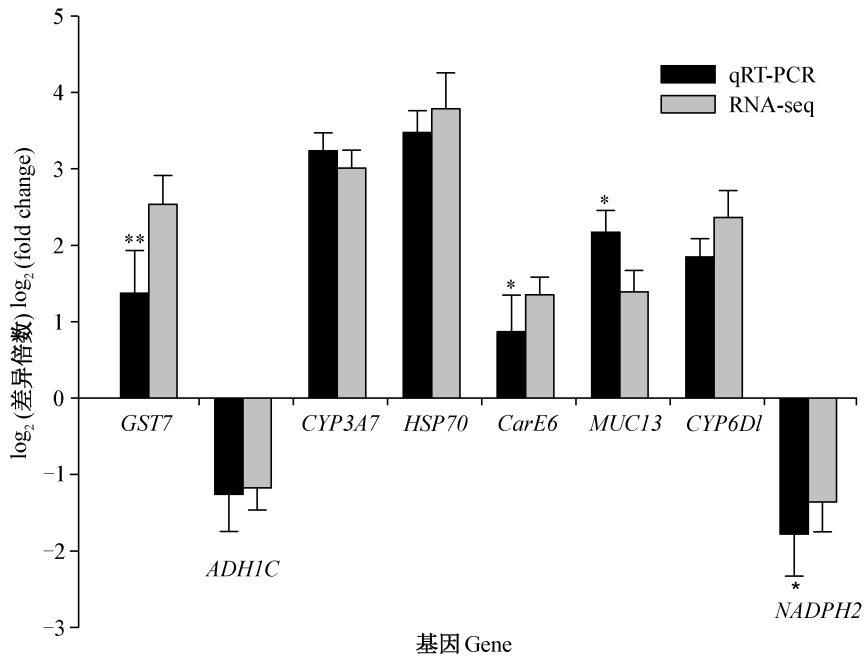


图4 亚洲小车蝗高效氯氰菊酯胁迫前后转录组间差异表达基因的RNA-Seq测序数据和qRT-PCR验证数据

Fig. 4 qRT-PCR validation and RNA-Seq sequencing data of differentially expressed genes between transcriptomes before and after beta-cypermethrin stress in *Oedaleus asiaticus*

图中数据为平均数±标准误。\*和\*\*分别表示经独立样本t检验法检验差异显著(P<0.05和P<0.01)。Data are mean±SE. \* or \*\* indicates significant difference by independent sample t test (P<0.05 or P<0.01).

### 3 讨论

到目前为止,化学杀虫剂仍然是防治害虫的主要手段,但因其长期不合理使用所带来的负面影响

日益突显,其中抗药性的逐年增加导致杀虫剂的敏感性降低是主要问题之一(吴有刚等,2019)。蝗虫作为严重影响我国农林牧业安全生产的主要害虫种类,防治蝗虫的化学农药种类繁多,涉及菊酯类、大



环内脂类以及新烟碱类农药等,这些药剂均具有高效低毒的优点,被广泛用于蝗虫防治(涂雄兵等, 2020)。随着近些年转录组测序技术的不断发展,已被广泛用于筛选与昆虫抗药性相关基因及调控网络的研究中(陈龙飞等, 2020),如飞蝗(Jiang et al., 2012)、柑橘木虱 *Diaphorina citri*(宋晓兵等, 2023)以及致倦库蚊 *Culex pipiens quinquefasciatus*(沈瑞鑫等, 2020)等害虫。本研究通过 Illumina HiSeq 4000 高通量测序平台对高效氯氰菊酯处理前后的亚洲小车蝗进行了转录组测序,并深入挖掘了与亚洲小车蝗抗药性相关的基因及调控网络。

本研究共检测到 743 个差异表达基因,包括 208 个上调表达基因,535 个下调表达基因,其中与亚洲小车蝗抗药性相关差异表达基因有 47 个。GO 功能富集和 KEGG 富集通路分析显示,在 743 个差异表达基因中有 168 个差异表达基因显著富集到 GO 数据库的三大功能分类中,包括代谢、生长以及免疫等多个过程,有 162 个差异表达基因显著富集到 20 条 KEGG 数据库的不同代谢通路,其中涉及多个与昆虫抗药性相关的代谢通路,如 CYP450 对外源物质的代谢通路,该通路是昆虫应对杀虫剂胁迫的重要途径(朱江和邱星辉, 2021)。

CarE、GST 以及 CYP450 是参与昆虫抗药性代谢的三大解毒酶系,属于多基因编码的超级家族酶系,是诱导害虫产生抗药性的关键基因(孙丽娜等, 2020; 黄云等, 2022)。目前,对拟除虫聚酯类杀虫剂的抗性研究相对较深入,昆虫主要通过调控解毒酶活性和钠离子通道敏感度来提高抗药性,通常情况下,昆虫摄入有毒化合物后其体内 CYP450、GST 和 CarE 的表达水平和催化活性会显著升高,以抵抗有毒物质的胁迫,维持个体发育和生存(Birnbaum et al., 2017; 黄训兵等, 2021)。其中最普遍的抗药性机制是通过上调表达 CYP450 基因来完成的(Zhen & Gao, 2016; Khan et al., 2020),其次是通过调控 CarE 和 GST 在物种体内的活性降低对杀虫剂的抗性,如在小菜蛾 *Plutella xylostella* 的抗药性研究中,通过调高 CarE 和 GST 活性来降低对杀虫剂氯虫苯甲酰胺的敏感性(Li et al., 2018)。本研究共筛选到 6 条编码 CYP450 的基因、5 条编码 GST 的基因以及 1 条编码 CarE 的基因,这些基因可能参与并介导了亚洲小车蝗对高效氯氰菊酯的应激反应和抗药性的产生等过程。朱江和邱星辉(2021)研究认为,通过调控 CarE、GST 以及 CYP450 三大解毒酶系来降低杀虫剂的毒性可能是昆虫在长期的进化过程中形成的重

要种群生存和繁衍策略。同时在高效氯氰菊酯胁迫下,差异表达基因主要富集到碳代谢、糖酵解/糖异生和氨基酸生物合成等生物学过程,这些功能都与物质代谢转运等相关,表明亚洲小车蝗在抗药性形成过程中可能会需要大量能量来维持各项生命活动。

本研究的转录组测序结果表明,亚洲小车蝗响应 4.5% 高效氯氰菊酯胁迫的抗性基因主要与代谢抗性相关,通过上调表达抗性相关基因来提高蝗虫应对杀虫剂的胁迫,以维持自身生理状态的平衡。不同田间亚洲小车蝗种群体内 GST、CYP450、HSP70、CarE 和 MUC 各家族部分基因的表达量有所升高,与生理生化水平上对解毒酶的活性变化研究结果基本一致。筛选到的 47 条与抗药性相关基因可为进一步深入研究亚洲小车蝗对杀虫剂的代谢、解毒以及作用机制等提供靶标位点。

## 参 考 文 献 (References)

- Altschul SF, Madden TL, Schäffer AA, Zhang JH, Zhang Z, Miller W, Lipman DJ. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, 25(17): 3389–3402
- Basset Y, Cizek L, Cuénoud P, Didham RK, Guilhaumon F, Missa O, Novotny V, Ødegaard F, Roslin T, Schmidl J, et al. 2012. Arthropod diversity in a tropical forest. *Science*, 338(6113): 1481–1484
- Birnbaum SSL, Rinker DC, Gerardo NM, Abbot P. 2017. Transcriptional profile and differential fitness in a specialist milkweed insect across host plants varying in toxicity. *Molecular Ecology*, 26(23): 6742–6761
- Brattsten LB, Holyoke CW Jr., Leeper JR, Raffa KF. 1986. Insecticide resistance: challenge to pest management and basic research. *Science*, 231(4743): 1255–1260
- Cease AJ, Elser JJ, Ford CF, Hao SG, Kang L, Harrison JF. 2012. Heavy livestock grazing promotes locust outbreaks by lowering plant nitrogen content. *Science*, 335(6067): 467–469
- 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 LF, Nie XM, Liang P, Li F, Han ZJ. 2020. The comprehensive method for detecting insecticide resistance by RNA-Seq data analysis. *Journal of Plant Protection*, 47(1): 18–25 (in Chinese) [陈龙飞, 聂僖曼, 梁沛, 李飞, 韩召军. 2020. 基于转录组数据的害虫抗药性综合检测方法. *植物保护学报*, 47(1): 18–25]
- Cui K, Wu WW, Diao QY. 2019. Application and research progress on transcriptomics. *Biotechnology Bulletin*, 35(7): 1–9 (in Chinese) [崔凯, 吴伟伟, 刁其玉. 2019. 转录组测序技术的研究和应用

- 进展. 生物技术通报, 35(7): 1-9]
- Diao YP, Qi YM, Ma YJ, Xia A, Sharakhov I, Chen XG, Biedler J, Ling EJ, Tu ZJ. 2011. Next-generation sequencing reveals recent horizontal transfer of a DNA transposon between divergent mosquitoes. PLoS ONE, 6(2): e16743
- Dong W, Zhang XB, Zhang XY, Wu HH, Zhang M, Ma EB, Zhang JZ. 2016. Susceptibility and potential biochemical mechanism of *Oedaleus asiaticus* to beta-cypermethrin and deltamethrin in the Inner Mongolia, China. Pesticide Biochemistry and Physiology, 132: 47-52
- Eddy SR. 1998. Profile hidden Markov models. Bioinformatics, 14(9): 755-763
- Grabherr MG, Haas BJ, Yassour M, Levin JZ, Thompson DA, Amit I, Adiconis X, Fan L, Raychowdhury R, Zeng QD, et al. 2011. Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome. Nature Biotechnology, 29: 644-652
- Huang X, McNeill M, Zhang Z. 2016. Quantitative analysis of plant consumption and preference by *Oedaleus asiaticus* (Acrididae: Oedipodinae) in changed plant communities consisting of three grass species. Environmental Entomology, 45(1): 163-170
- 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]
- Huang Y, Wu PZ, Zheng JY, Zhang Y, Qiu LH. 2022. Status of resistance to chemical insecticides in cotton bollworm *Helicoverpa armigera* and research progresses on the molecular mechanisms. Journal of Plant Protection, 49(1): 336-350 (in Chinese) [黄云, 吴沛卓, 郑钧月, 张瑜, 邱立红. 2022. 棉铃虫对化学杀虫剂的抗性现状及分子机制研究进展. 植物保护学报, 49(1): 336-350]
- Jiang F, Yang ML, Guo W, Wang XH, Kang L. 2012. Large-scale transcriptome analysis of retroelements in the migratory locust, *Locusta migratoria*. PLoS ONE, 7(7): e40532
- Jin JX. 2017. Study on dynamic monitoring of insecticide resistance and resistance-related genes based on transcriptome data of *Sogatella furcifera* (Horváth) in Guizhou Province. PhD thesis. Guiyang: Guizhou University (in Chinese) [金剑雪. 2017. 贵州白背飞虱抗药性动态监测及其抗性相关基因的转录组学分析. 博士学位论文. 贵阳: 贵州大学]
- Jin YL, Gao YG, Dong H, Wang LY, Zhang HY. 2021. Resistance monitoring and management of grasshopper field populations in western Heilongjiang Province. Journal of Plant Protection, 48(1): 228-236 (in Chinese) [金永玲, 高玉刚, 董辉, 王丽艳, 张海燕. 2021. 黑龙江省西部草原蝗虫田间种群的抗药性检测及治理. 植物保护学报, 48(1): 228-236]
- Joußen N, Agnolet S, Lorenz S, Schöne SE, Ellinger R, Schneider B, Heckel DG. 2012. Resistance of Australian *Helicoverpa armigera* to fenvalerate is due to the chimeric P450 enzyme CYP337B3. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 109(38): 15206-15211
- Kang L, Chen YL. 1994. Study on the trophic niche of grasshoppers in grassland. Acta Entomologica Sinica, 37(2): 605-611 (in Chinese) [康乐, 陈永林. 1994. 草原蝗虫营养生态位的研究. 昆虫学报, 37(2): 605-611]
- Khan RR, Al-Ghafri THA, Ali Humaid Al-Khatri S, Al-Mazidi ISS, Al-Rawahi FG. 2020. Resistance to deltamethrin and fenitrothion in dubas bug, *Ommatissus lybicus* de Bergevin (Homoptera: Tropiduchidae) and possible biochemical mechanisms. Scientific Reports, 10: 13220
- Lan YQ, Zhao SX, Wu G. 2006. Realized resistance heritability and resistance risk of *Spodoptera exigua* to cyhalothrin, fenvalerate and alpha-cypermethrin. Chinese Journal of Applied Ecology, 17(3): 3468-3471 (in Chinese) [兰亦全, 赵士熙, 吴刚. 2006. 甜菜夜蛾对三种拟除虫菊酯类杀虫剂的抗性遗传力及风险评估. 应用生态学报, 17(3): 3468-3471]
- Li G, Zhang ZH, Zhang LS. 2007. Control index of *Oedaleus asiaticus* in Keerqin grasslands. Plant Protection, 33(5): 63-67 (in Chinese) [李广, 张泽华, 张礼生. 2007. 科尔沁草原亚洲小车蝗防治指标研究. 植物保护, 33(5): 63-67]
- Li XX, Li R, Zhu B, Gao XW, Liang P. 2018. Overexpression of cytochrome P450 CYP6BG1 may contribute to chlorantraniliprole resistance in *Plutella xylostella* (L.). Pest Management Science, 74(6): 1386-1393
- 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
- Mao AN, Guan TX, Jin X, Li JX, Yimamu A, Haxiqiqige, Li RC, Zhao L. 2021. The control efficiency of five kinds of pesticides to locusts in field. Xinjiang Agricultural Science and Technology, (5): 31-33 (in Chinese) [毛安妮, 管廷贤, 靳茜, 李金星, 艾力卡木·伊马木, 哈西琪琪格, 李荣才, 赵莉. 2021. 五种药剂对蝗虫的田间防治试验. 新疆农业科技, (5): 31-33]
- Meng FX, Wang YG, Feng L, Liu QY. 2015. Review on dengue prevention and control and integrated mosquito management in China. Chinese Journal of Vector Biology and Control, 26(1): 4-10 (in Chinese) [孟凤霞, 王义冠, 冯磊, 刘起勇. 2015. 我国登革热疫情防控与媒介伊蚊的综合治理. 中国媒介生物学及控制杂志, 26(1): 4-10]
- Mu W, Guo YY, Zhang WJ. 2003. Susceptible toxicity baseline of *Spodoptera exigua* (Hübner) to pyrethroid insecticides. Journal of Plant Protection, 30(2): 221-222 (in Chinese) [慕卫, 郭予元, 张文吉. 2003. 甜菜夜蛾对菊酯类杀虫剂敏感基线的建立. 植物保护学报, 30(2): 221-222]
- Naeem A, Freed S, Jin FL, Akmal M, Mehmood M. 2016. Monitoring of insecticide resistance in *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae) from citrus groves of Punjab, Pakistan. Crop Protection, 86: 62-68
- Qin GH, Jia M, Liu T, Xuan T, Zhu KY, Guo YP, Ma EB, Zhang JZ. 2011. Identification and characterisation of ten glutathione S-transferase genes from oriental migratory locust, *Locusta migratoria*.

- toria manilensis* (Meyen). *Pest Management Science*, 67(6): 697–704
- Qin GH, Jia M, Liu T, Zhang XY, Guo YP, Zhu KY, Ma EB, Zhang JZ. 2013. Characterization and functional analysis of four glutathione *S*-transferases from the migratory locust, *Locusta migratoria*. *PLoS ONE*, 8(3): e58410
- Qin GH, Liu T, Guo YP, Zhang XY, Ma EB, Zhang JZ. 2014. Effects of chlorpyrifos on glutathione *S*-transferase in migratory locust, *Locusta migratoria*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 109: 1–5
- Robinson MD, McCarthy DJ, Smyth GK. 2010. edgeR: a bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. *Bioinformatics*, 26(1): 139–140
- Shen RX, Wang YT, Li CX, Wu JH, Zhao TY, Chen Y. 2020. Analysis of deltamethrin resistance-related genes based on the transcriptome of *Culex pipiens quinquefasciatus*. *Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Diseases*, 38(4): 453–463 (in Chinese) [沈瑞鑫, 王意婷, 李春晓, 吴家红, 赵彤言, 陈艳. 2020. 基于致倦库蚊转录组的溴氟菊酯抗性相关基因分析. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 38(4): 453–463]
- Sun LN, Zhang HJ, Liu XH, Qiu GS. 2020. Transcriptomic analysis of insecticide target and detoxification related genes in *Adoxophyes orana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Acta Entomologica Sinica*, 63(4): 470–481 (in Chinese) [孙丽娜, 张怀江, 刘孝贺, 仇贵生. 2020. 基于转录组的苹小卷叶蛾杀虫剂靶标及解毒代谢相关基因分析. *昆虫学报*, 63(4): 470–481]
- Song XB, Cui YP, Ling JF, Huang F, Chen X, Peng AT. 2023. Transcriptome analysis of *Diaphorina citri* Kuwayama in response to beta-cypermethrin stress. *Journal of Southern Agriculture*, 54(3): 829–838 (in Chinese) [宋晓兵, 崔一平, 凌金锋, 黄峰, 陈霞, 彭埃天. 2023. 亚洲柑橘木虱响应高效氯氟菊酯胁迫的转录组分析. *南方农业学报*, 54(3): 829–838]
- Tu XB, Li S, Pan F, Xu CM, Chen J, Dong FS, Zhang ZH. 2020. Advances research on chemical control of locusts and grasshoppers. *Modern Agrochemicals*, 19(2): 1–5, 33 (in Chinese) [涂雄兵, 李霜, 潘凡, 徐超民, 陈俊, 董丰收, 张泽华. 2020. 蝗虫化学防控研究进展. *现代农药*, 19(2): 1–5, 33]
- Wang JQ, Li HM, Wang LF, Wang HY, Wang L, Yan SX, Yang HY. 2023. Transcriptome analysis reveals the responses mechanism of sorghum to greenbug. *Journal of Shanxi Agricultural University (Natural Science Edition)*, 43(1): 28–36 (in Chinese) [王坚强, 李慧明, 王林芳, 王绘艳, 王磊, 闫素仙, 杨慧勇. 2023. 转录组学分析揭示高粱对麦二叉蚜抗性的响应机制. *山西农业大学学报(自然科学版)*, 43(1): 28–36]
- Wang YH, Wu SG, Zhu YC, Chen J, Liu FY, Zhao XP, Wang Q, Li Z, Bo XP, Shen JL. 2009. Dynamics of imidacloprid resistance and cross-resistance in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 131(1): 20–29
- Wang ZY, Yan HF, Yang YH, Wu YD. 2010. Biotyping and insecticide resistance status of the whitefly *Bemisia tabaci* from China. *Pest Management Science*, 66(12): 1360–1366
- Wu YG, Jin J, Yang SX, Wu P, Hu Q, Du YB, Fan JT. 2019. Insect resistance development mechanism. *Journal of Biosafety*, 28(3): 159–169 (in Chinese) [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]
- Xie C, Mao XZ, Huang JJ, Ding Y, Wu JM, Dong S, Kong L, Gao G, Li CY, Wei LP. 2011. KOBAS 2.0: a web server for annotation and identification of enriched pathways and diseases. *Nucleic Acids Research*, 39(S2): 316–322
- Xu CM, Wang JT, Li S, Liu LL, Yao GM, Wei J, Wang KF, Wang WC, Tu XB, Zhang ZH. 2021. Research progresses in control technology of locust pests. *Journal of Plant Protection*, 48(1): 73–83 (in Chinese) [徐超民, 王加亭, 李霜, 刘路路, 姚贵敏, 伟军, 王坤芳, 王文成, 涂雄兵, 张泽华. 2021. 蝗虫综合防控技术研究进展. *植物保护学报*, 48(1): 73–83]
- Zhang WB, Ren H, Sun FL, Shen TT, Yuan S, Gao XW, Tan Y. 2022. Evaluation of the toxicity of chemical and biogenic insecticides to three outbreaking insects in desert steppes of northern China. *Toxins*, 14(8): 546
- Zhen CA, Gao XW. 2016. A point mutation (L1015F) of the voltage-sensitive sodium channel gene associated with lambda-cyhalothrin resistance in *Apolygus lucorum* (Meyer-Dür) population from the transgenic Bt cotton field of China. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 127: 82–89
- Zhou YT, Li L, Zhou XR, Tan Y, Pang BP. 2019. Identification and expression profiling of candidate chemosensory membrane proteins in the band-winged grasshopper, *Oedaleus asiaticus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, 30: 33–44
- Zhu J, Qiu XH. 2021. Molecular mechanisms of expression regulation of insect cytochrome P450 genes involved in insecticide resistance. *Acta Entomologica Sinica*, 64(1): 109–120 (in Chinese) [朱江, 邱星辉. 2021. 昆虫抗药性相关细胞色素P450基因的表达调控机制. *昆虫学报*, 64(1): 109–120]

(责任编辑: 李美娟)