康奎, 张杰, 万思景, 龚俊, 张道伟. *cycle* 基因对噻嗪酮、噻虫嗪防治白背飞虱效果影响探索研究 [J]. 环境昆虫学报, 2023, 45 (4): 1072–1078.

cycle 基因对噻嗪酮、噻虫嗪防治白背飞虱效果影响探索研究

康奎, 张杰, 万思景, 龚俊, 张道伟*

(遵义师范学院生物与农业科技学院/贵州省赤水河流域动物资源保护与应用研究重点实验室, 遵义 563002)

摘要: 白背飞虱 *Sogatella furcifera* 是我国重要的迁飞性水稻害虫, 长期以来, 其防治手段主要是化学防治。大量使用化学农药易导致环境污染及害虫抗药性增加等, 因此需要探索高效的农药使用方法。本研究在 1 d 内不同时间点用 0.27 g/L 噻虫嗪、5 mL/L 噻嗪酮对白背飞虱的致死率进行检测, 结果发现, 7:00 时噻虫嗪、噻嗪酮浸染 72 h 后的校正死亡率均最低, 分别为 54%、13.9%; 16:00 时噻虫嗪、噻嗪酮浸染 72 h 后的校正死亡率均最高, 分别为 89.8%、44.9%。定量结果表明节律基因 *Sfcycle* 在白背飞虱雌虫或雄虫的中肠表达量最高, 4 龄和 5 龄若虫期在蜕皮前表达量比蜕皮后高, 成虫期表达量相对稳定。RNAi 研究结果发现 *Sfcycle* 能够影响白背飞虱 P450 基因 *SfCYP4DE1* 和 *SfCYP353D1v2* 的表达, 用农药处理干涉后的白背飞虱死亡率都在 7:00、16:00 两个时间点都增高, 且没有显著性差异, 表明 *Sfcycle* 基因能够影响噻虫嗪、噻嗪酮对白背飞虱的防治效率。

关键词: 白背飞虱; 生物节律; 噻嗪酮; 噻虫嗪; 害虫防治

中图分类号: Q968.1; Q963; S433

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2023) 04-1072-07

Exploration of *cycle* affects buprofezin and thiamethoxam efficiency in *Sogatella furcifera*

KANG Kui, ZHANG Jie, WAN Si-Jing, GONG Jun, ZHANG Dao-Wei* (College of Biology and Agriculture, Zunyi Normal University/Laboratory of Regional Characteristic for Conservation and Utilization of Animal Resource in Chishui River Basin, Zunyi 563002, China)

Abstract: *Sogatella furcifera* (white-backed planthopper, WBPH) is an important migratory rice pest in China, and chemical pesticides as the main method for a long time. The extensive use of chemical pesticides can lead to environmental pollution and increase insect resistance, so it is necessary to explore efficient pesticide application methods. In this study, 0.27 g/L thiamethoxam and 5 mL/L buprofezin were used to detect the mortality rate of WBPH at different time points in a day. The results showed that adjusted mortality rates of thiamethoxam and buprofezin were the lowest at 7:00, which were 54% and 13.9% respectively, and the corrected mortality rates after 72 h were the highest at 16:00, 89.8% and 44.9% respectively. The quantitative results showed that the expression level of the rhythm gene *Sfcycle* was the highest in the midgut of female or male of WBPH, and the expression level of the 4th and 5th instar nymphs before molting was higher than that after molting, and the expression level was relatively stable in adult stage. RNAi results showed that *Sfcycle* could affect the expression of P450 genes *SfCYP4DE1* and

基金项目: 学术新苗培养及创新探索项目培育项目 (黔科合平台人才 [2018 年] 5784-07 号)

作者简介: 康奎, 男, 1988 年生, 湖北襄阳人, 博士, 副教授, 研究方向为昆虫分子生物学, E-mail: hzausgkk@163.com

* 通讯作者 Author for correspondence: 张道伟, 男, 博士, 教授, 研究方向为昆虫分子生物学, E-mail: 717074385@qq.com

收稿日期 Received: 2022-03-29; 接受日期 Accepted: 2022-09-07

SfCYP353D1v2 of WBPH. The mortality of WBPH increased at 7:00 and 16:00 after the intervention of pesticide treatment, and there was no significant difference, which indicated that *Sfcycle* could affect the control efficiency of thiamethoxam and buprofezin.

Key words: *Sogatella furcifera*; biological rhythm; thiamethoxam; uprofezin; pest control

白背飞虱 *Sogatella furcifera* 属半翅目飞虱科, 是危害水稻且所涉范围较大的迁飞性害虫之一, 同时也是我国和东南亚水稻产区的主要害虫之一。白背飞虱的成虫和若虫经常群集于水稻丛的下部刺吸水稻汁液, 或雌虫用产卵器刺破叶鞘和叶片 (金剑雪, 2011), 白背飞虱也能够进行病毒的传播, 如南方水稻黑条矮缩病毒 (刘丹凤, 2016)。长期以来, 对于白背飞虱的防治手段都是利用化学药物来进行防治, 但是长时间的使用化学农药, 不仅会导致害虫产生一定的抗药性, 而且对于环境也有着严重的破坏和污染。

化学杀虫剂的应用通常被认为是一种廉价和容易获得的抑制害虫数量的方法, 在过去的 50 年里, 它一直是害虫防治的主要形式 (Liang *et al.*, 2015)。现在大部分的研究都偏向寻找适合的生物药剂来进行防治白背飞虱, 但由于其应用成本较高且防治效果比化学药剂见效慢, 所以目前大部分的地区依旧使用的是化学农药 (汪勇等, 2017)。在我国对于农药的使用有较为严重的浪费现象并且农药的有效利用率很低, 仅为 20%, 所浪费的农药会对环境造成一定的破坏和污染 (屠豫钦等, 2003)。为了降低对生态环境的危害, 农药的高效利用就显得尤为重要, 如何高效的使用农药, 降低环境污染及白背飞虱产生抗药性的速率仍然是一项长期研究目标。研究表明, 杀虫剂氯氰菊酯在斜纹夜蛾 3 龄幼虫中暴露于 3 种不同光周期的毒性有不同的结果, 在不同的时间, 不同的光周期, 谷胱甘肽 S-转移酶 (GST) 活性发生了显著变化。在此期间, 特定的解毒酶的活性会波动, 对于特定的杀虫剂, 导致 50% 死亡率的浓度在不同的光周期中会发生显著变化 (Karthi and Shivakumar, 2016)。

生物钟是生物体生命活动的内在节律性, 它会影响着动物许多的生理活动和行为, 能够表现出一定的节律性, 动物中存在着许多的节律基因。昼夜节律所产生的每日节律能够调节许多的生命功能, 在果蝇中也证明了昼夜节律系统在调节异种生物毒性方面具有保守作用 (Michelle *et al.*, 2010)。根据研究果蝇突变体发现, *clock* 基因能在

脂肪体中影响淀粉向蛋白质转变的过程, 从而使昆虫更具有饥饿感, 进一步影响到昆虫的取食行为 (Chatterjee *et al.*, 2010), 在果蝇的味觉器官中 *cycle* 和 *period* 基因也通过影响味觉受体神经元的表达来影响它的取食行为 (Xu *et al.*, 2008)。在褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 中干涉 *Nlcycle* 节律基因能够影响其对吡虫啉农药的抗性 (Kang *et al.*, 2017)。在沙漠蝗虫 *Schistocerca gregaria* 中, 利用 RNAi 的方法也发现 *period* 和 *timeless* 基因不仅能够影响雄虫精子的运输与释放, 还能够影响雌虫卵巢内卵的发育 (Tobback *et al.*, 2011; Tobback *et al.*, 2012)。

本研究拟结合昆虫生物节律, 在一天不同时间点探索噻虫嗪、噻嗪酮对白背飞虱的防治效率, 并利用 RNAi 方法探索白背飞虱节律基因 *Sfcycle* 在两种农药防控中的作用, 研究结果可为农药的高效使用提供一定的理论基础。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

实验所用白背飞虱来采自于遵义市, 昆虫饲养温室中混合饲养, 饲养温室温度为 $28 \pm 1^\circ\text{C}$, 相对湿度为 $80\% \pm 10\%$, 光周期为 L:D = 16 h:8 h。噻虫嗪 (30% 悬浮剂) 购至山东华阳农药化工集团有限公司, 噻嗪酮 (50% 悬浮剂) 购至上海悦联生物科技有限公司, 配置溶剂为水。

1.2 农药室内致死效率检测

配制田间推荐使用的浓度为 0.27 g/L 噻虫嗪、5 mL/L 噻嗪酮, 利用稻茎浸渍法 (宋江波, 2017), 将准备好的水稻茎在 0.27 g/L 噻虫嗪或 5 mL/L 噻嗪酮药液中浸渍 30 s, 晾干, 用棉花包住水稻根部使其处于湿润状态, 置于培养管中。将成虫第 1 天的白背飞虱用吸虫器移入培养管中, 每个培养管放置 20 头试虫, 管口处用纱布罩住, 每个时间点 3 个重复组, 以水处理为对照。处理组及对照组都置于相同条件下的昆虫饲养温室中观察, 每隔 3 h 统计死亡率, 统计 12 h。采用校正死亡率计算, 公式如下:

校正死亡率(%) = (处理死亡率 - 对照死亡率) / (1 - 对照死亡率) × 100

1.3 白背飞虱 *Sfecycle* 序列的克隆

在网上数据库 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 上搜索昆虫 *cycle* 基因, 选择褐飞虱、

果蝇、蚜虫等与白背飞虱相近或模式昆虫物种, 利用本地 Blast 在白背飞虱转录组数据中查找序列。设计全长引物克隆并测序后, 在 NCBI 进行 Blastx 验证克隆序列, 获得其部分序列。设计引物见表 1。

表 1 本实验所用引物
Table 1 Primers used in this study

引物名称 Primer name	引物 (5'-3') Primer	用途 Purpose
Sfecycle-F	ACGGAATGGTGGCTAGAACT	基因克隆
Sfecycle-R	CCACTGAAATGTAACCACCA	Gene cloning
dsRNA-Sfecycle-F	CATGGATGGCAAGTTCCTAT	ds <i>Sfecycle</i> 合成 ds <i>Sfecycle</i> synthesis
dsRNA-Sfecycle-R	ACCATCTTTGCTTCGAAACC	
dsRNA-T7cycle-F	GGATCCTAATACGACTCACTATAGGCATGGATGGCAAGTTCCTAT	ds <i>Sfecycle</i> 合成 ds <i>Sfecycle</i> synthesis
dsRNA-T7cycle-R	GGATCCTAATACGACTCACTATAGGACCATCTTTGCTTCGAAACC	
Q-Sfecycle-F	ACGGAATGGTGGCTAGAACT	实时定量 PCR
Q-Sfecycle-R	TGGATAGGAAGGACGGTTT	Real-time Quantitative PCR
β -Actin-F	TGCCTGACATCAAGGAGAAGC	内参基因
β -Actin-R	CCATACCCAAGAAGGAAGGCT	Reference gene

1.4 节律基因 *Sfecycle* 的 RNA 干涉

根据扩增得到的序列, 避开定量区域, 设计 dsRNA 引物 (见表 1)。dsRNA 合成使用 Promega T7 RiboMAX™ Express RNAi System 试剂盒进行。所合成的 dsRNA 分别进行凝胶电泳检测其完整性和微量核酸蛋白测定仪测定其浓度。按照 Kang 等方法进行 RNA 干涉, 注射量为 150 ng/头, 注射同等量的 dsGFP 作为对照。注射后将白背飞虱放于新鲜水稻上, 并放回温室继续饲养, 在干涉 24 h、48 h、72 h 后取样, 每管 3 头, 共取 9 管, 检测其干涉效率。同一批注射的白背飞虱使用 1.2 方法进行农药致死效率检测。

1.5 定量 PCR 检测

白背飞虱虫体或组织样品总 RNA 的提取采用 Trizol 试剂 (Invitrogen 公司)。将所提取的总 RNA 用凝胶成像系统分析其完整性, RNA 浓度的测定在 NanoDrop 2000 核酸蛋白分析仪上进行, 并通过 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 验证纯度。然后使用 PrimeScript™ RT reagent Kit (TaKaRa) 将 1 μ g Total RNA 反转录成 cDNA。

使用 PCR 多孔板按下列组分配置定量 PCR 反应体系 (10 μ L 反应体系): SYBR premix Ex Taq,

5 μ L; cDNA 模板, 1 μ L; PCR Forward Primer (F), 0.2 μ L; PCR Reverse Primer (R), 0.2 μ L; ddH₂O, 3.6 μ L; 共 10 μ L。每个处理进行 3 次生物学重复, 引物序列如表 1 所示, q-PCR 反应程序如下: 95°C 预变性 10 s; 95°C 变性 5 s; 58°C 退火 15 s; 72°C 延伸 20 s; 共 40 个循环。使用 β -Actin 基因作为内参。数据使用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法进行运算, 用白背飞虱注射 dsGFP 组的 Ct 值为对照组。

1.6 数据分析

用 Excel 软件对数据进行整理, 并使用 SPSS 17.0 软件对所统计的具体数据进行统计分析, 使用 One-Way ANOVA 法进行差异显著性检验 ($P < 0.05$ 为差异显著, 用 * 表示; $P < 0.01$ 为差异极显著, 用 ** 表示), 数据表示为平均值 $\pm$ 标准误差。处理后的数据采用 GraphPad Prism 6 软件作图。

2 结果与分析

2.1 不同时间点白背飞虱对两种农药的敏感性检测

利用 0.27 g/L 噻虫嗪、5 ml/L 噻嗪酮处理白

背飞虱在 72 h 内的死亡率如图 1。噻虫嗪、噻嗪酮处理的白背飞虱统计至 72 h 时, 在 7:00 时校正死

亡率均较低, 分别为 54%、13.9%, 16:00 时校正死亡率均较高, 分别为 89.8%、44.9%。

图 1 0.27 g/L 噻虫嗪 (A)、5 mL/L 噻嗪酮 (B) 在不同时间点对白背飞虱的致死率检测

Fig. 1 Adjusted mortality rates of WBPH exposed to thiamethoxam (0.27 g/L) (A) and uprofezin (5 mL/L) (B) at different time points

注: 数据为平均值 ± 标准误, 不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$, t 检验)。Note: Data were shown as the means ± SE. Different letters over the points indicated a significant difference ($P < 0.05$, t -test).

2.2 白背飞虱节律基因 *Sfcycle* 的克隆及表达分析
通过对 *Sfcycle* 基因的克隆获得其全长为 5 042 bp。荧光定量 PCR 检测结果显示 *Sfcycle* 基因在各组织中均有表达, 且发现其在卵巢中的表

达量最低, 中肠表达量最高。4 龄和 5 龄若虫期在蜕皮前 *Sfcycle* 表达量较之蜕皮后高, 成虫期表达量相对稳定 (图 2)。

图 2 *Sfcycle* 基因在不同组织和发育龄期中的表达量

Fig. 2 Relative mRNA expression of *Sfcycle* in different tissues of one-day-old brachypterous females and different development stage
注: Ov, 卵巢; Mg, 中肠; Ep, 表皮; Fb, 脂肪体; He, 头。数据为平均值 ± 标准误, 不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$, Tukey's 检验)。Note: Ov, Ovary; Mg, Midgut; Ep, Epidermis; Fb, Fat body; He, Head. Data were shown as the means ± SE. Different letters over the points indicated a significant difference ($P < 0.05$, Tukey's test).

2.3 *Sfcycle* 基因干涉效果检测

与注射 dsGFP 相比在注射了 150 ng 的 ds*Sfcycle* 后, *Sfcycle* mRNA 的相对表达水平在 3 个检测时间点与 dsGFP 相比均有显著性下调 (图 3-A)。干涉

24 h 后分别在 7:00 和 16:00 检测 *SfCYP4DE1* 和 *SfCYP353D1v2* 的基因表达量, 结果发现与对照相比, 2 个 P450 基因的表达量在 2 个检测时间点均显著降低。

图3 白背飞虱节律基因 *Sfcycle* 干涉效率 (A) 及其对 P450 基因的影响 (B, C)

Fig. 3 Efficiency of RNA interference (A) and affects of the expression levels of P450 genes (B, C)

注: 数据为平均值 $\pm$ 标准误, 柱上星号表示差异极显著 ($P < 0.01$, t 检验)。Note: Data were shown as the means $\pm$ SE. Asterisk over the points indicated a significant difference ($P < 0.01$, t -test).

2.4 干涉后噻虫嗪、噻嗪酮在一天不同时间处理白背飞虱后死亡率统计情况

为了更好的验证节律基因是否影响白背飞虱对噻虫嗪、噻嗪酮的耐性, 利用 RNAi 方法处理白背飞虱, 并分别在 7:00 和 16:00 利用噻虫嗪、噻嗪酮处理白背飞虱。在干涉节律基因后, 利用噻

虫嗪、噻嗪酮处理白背飞虱的死亡率并没有显著差异, 对照组注射了 dsGFP 之后的两个时间点仍有显著差异。这表明 *Sfcycle* 基因的表达量影响着白背飞虱对噻虫嗪、噻嗪酮的耐性, 即影响了噻虫嗪、噻嗪酮对白背飞虱的防治效果 (图 4)。

图4 干涉 *Sfcycle* 后 0.27 g/L 噻虫嗪 (A)、5 mL/L 噻嗪酮 (B) 在不同时间点对白背飞虱的致死率检测

Fig. 4 Adjusted mortality rates of WBPH exposed to thiamethoxam (0.27 g/L) (A) and uprofezin (5 mL/L) (B) at different time points injection of dsGFP and ds*Sfcycle*

注: 数据为平均值 $\pm$ 标准误, 柱上星号表示差异显著 (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, t 检验), ns 表示没有显著性差异。Note: Data were shown as the means $\pm$ SE. Asterisk over the points indicated a significant difference (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, t -test). ns indicated no significant difference.

3 结论与讨论

生物钟存在于所有的生物体中, 包括细菌、植物和动物。迄今, 已经有多个时钟基因以及时钟相关基因被鉴定, 这一些时钟基因会和它们的相应产物组成两个互相依赖的转录/翻译反馈环

路, 从而来调节行为和生理的昼夜节律 (周先举等, 2005)。生物的节律也会受到光和温度的影响, 在 24 h 之内会呈现有规律的变化, 它们通常在不同的组织中会有不同的下游基因来调控组织内基因的节律 (Ceriani *et al.*, 2002)。据报道, 杀虫剂, 如有机磷和有机氯等, 对各种害虫昆虫的作用也会随着一天中不同的时间而变化 (Hooven

et al., 2009)。如, 埃及伊蚊 *Aedes aegypti* 和家蚕 *Bombyx mori* 在同一天的不同时间内对绿菊酯的抗性不同 (Yang *et al.*, 2010), 褐飞虱在 ZT20 和 ZT16 这两个时间点对吡虫啉的抗性也不同 (Kang *et al.*, 2017), 本研究也发现, 两种不同农药在一天不同时间内对白背飞虱的致死效率也有显著性的差异。

抗性代谢相关的酶的表达具有一定的节律现象, 这在多个昆虫中均有报道。例如, 许多已经确定或即将确定功能的基因如细胞色素 P450 蛋白, 细胞色素 P450 氧化还原伴侣, 酯酶, 谷胱甘肽-S 转移酶。据报道, 尿苷 5'-二磷酸葡萄糖基转移酶 (GSTs) 或尿苷 5'-二磷酸葡萄糖基转移酶有节律地表达 (Claridge-Chang *et al.*, 2001; McDonald and Rosbash, 2001; Ceriani *et al.*, 2002; Lin *et al.*, 2002; Ueda *et al.*, 2002)。在果蝇中至少有 5 个与农药代谢相关 P450 基因 *CYP4E2*、*CYP6A2*、*CYP6G1*、*CYP6W1*、*CYP12A4* 的表达具有节律 (Hooven *et al.*, 2009), 褐飞虱的 *CYP6AY1*、*CYP6ER1*、*CYP6AX1* 等 (Kang *et al.*, 2017)。在冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae* 中, 通过组学的测定发现至少有 2 000 以上的基因具有节律性表达, 而这其中就包括了与拟除虫菊酯和 DDT 代谢能力相关基因, 包括 *CYP6M2*、*CYP6P3*、*CYP6Z1* 和 *GSTE2*, 这些基因的表达最高值在一天不同的时间, 都是受节律调控的 (Balmert *et al.*, 2014)。杀虫剂氯氰菊酯在斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 3 龄幼虫中暴露于 3 种不同光周期的毒性有不同的结果, 在不同的时间、不同的光周期, 谷胱甘肽 S-转移酶 (GST) 活性发生了显著变化 (Wang *et al.*, 2020)。褐飞虱体内节律基因 *Nlcycle* 的表达情况影响了其抗药性基因的表达, 最终表现出其对农药吡虫啉的抗性降低 (Kang *et al.*, 2017)。本研究在降低了 *Sfcycle* 基因表达后, 显著影响了参与白背飞虱对杀虫剂响应的 2 个细胞色素 P450 基因 *SfCYP4DE1* 和 *SfCYP353D1v2* (贾泽艳等, 2020) 的表达, 通过对其进行农药浸染的水稻处理后, 白背飞虱的死亡率显著性的增加。

由于在农药方面存在高度的适应性, 导致就算使用特效的化学农药也不能够实现稻飞虱可持续治理的目标 (Pang *et al.*, 2015)。本试验将白背飞虱在一天之内对噻虫嗪、噻嗪酮的敏感性做了分析, 以求达到高效率的使用化学农药防治, 实验结果可以用来改善农药的使用和提高田间农药使用效率。

参考文献 (References)

- Balmert NJ, Rund SSC, Ghazi JP, *et al.* Time-of-day specific changes in metabolic detoxification and insecticide resistance in the malaria mosquito *Anopheles gambiae* [J]. *Journal of Insect Physiology*, 2014, 64 (1): 30-39.
- Ceriani MF, Hogenesch JB, Yanovsky M, *et al.* Genome-wide expression analysis in *Drosophila* reveals genes controlling circadian behavior [J]. *The Journal of Neuroscience*, 2002, 22 (21): 9305-9319.
- Chatterjee A, Tanoue S, Houl JH, *et al.* Regulation of gustatory physiology and appetitive behavior by the *Drosophila* circadian clock [J]. *Current Biology*, 2010, 20 (4): 300-309.
- Claridge-Chang A, Wijnen H, Naef F, *et al.* Circadian regulation of gene expression systems in the *Drosophila* head [J]. *Neuron*, 2001, 32 (4): 657-671.
- Hooven LA, Sherman KA, Shawn B, *et al.* Does the clock make the poison? Circadian variation in response to pesticides [J]. *PLoS ONE*, 2009, 4 (7): e6469.
- Jia YZ, Zhou C, Zeng QH, *et al.* Cloning and sequence analysis of two P450 genes and expression of the genes in *Sogatella furcifera* under insecticides stress [J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2020, 36 (1): 87-96. [贾泽艳, 周操, 曾庆会, 等. 白背飞虱两个 P450 基因的克隆、序列分析及杀虫剂胁迫下的表达分析 [J]. 中国生物防治学报, 2020, 36 (1): 87-96]
- Jin JX. Dynamic Monitoring of Drug Resistance and Transcriptomic Analysis of Resistance Related Genes of Hundred Backed Planthopper in Guizhou [D]. Guizhou: Guizhou University Doctoral Thesis, 2017. [金剑雪. 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 [D]. 贵州: 贵州大学博士论文, 2017]
- Kang K, Yang P, Pang R, *et al.* *Cycle* affects imidacloprid efficiency by mediating cytochrome P450 expression in the brown planthopper *Nilaparvata lugens* [J]. *Insect Molecular Biology*, 2017, 26 (5): 522-529.
- Karthi S, Shivakumar MS. Time-of-day specific changes in pesticide detoxification ability of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. *Biological Rhythm Research*, 2016, 47 (2): 1-18.
- Liang J, Tang S, Cheke RA, *et al.* Models for determining how many natural enemies to release inoculatively in combinations of biological and chemical control with pesticide resistance [J]. *Journal of Mathematical Analysis and Applications*, 2015, 422 (2): 1479-1503.
- Lin Y, Han M, Shimada B, *et al.* Influence of the period-dependent circadian clock on diurnal, circadian, and aperiodic gene expression in *Drosophila melanogaster* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99 (14): 9562-9567.
- Liu DF. Effects of Temperature, Rice Growth Period and White Backed Planthopper Status on the Transmission of Rice Black Stripe Dwarf Virus in South China [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences Master Thesis, 2016. [刘丹凤. 温度、水稻

- 生育期和白背飞虱虫态对南方水稻黑条矮缩病毒传播的影响 [D]. 北京: 中国农业科学院硕士论文, 2016]
- McDonald MJ, Rosbash M. Microarray analysis and organization of circadian gene expression in *Drosophila* [J]. *Cell*, 2001, 107 (5): 567–578.
- Michelle BL, Ada HL, Michael BS, et al. Circadian clock regulates response to pesticides in *Drosophila* via conserved *Pdp1* Pathway [J]. *Toxicological Sciences*, 2010, 115 (2): 513–520.
- Pang R, Li Y, Dong Y, et al. Identification of promoter polymorphisms in the cytochrome P450 CYP6AY1 linked with insecticide resistance in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* [J]. *Insect Molecular Biology*, 2015, 23 (6): 768–778.
- Song JB. Molecular Mechanism of *BmFoxo* Gene Regulating Silkworm Longevity [D]. Chongqing: Southwest University Doctoral Thesis, 2017. [宋江波. *BmFoxo* 基因调控家蚕寿命的分子机制研究 [D]. 重庆: 西南大学博士论文, 2017]
- Tobback J, Boerjan B, Vandersmissen HP, et al. Male reproduction is affected by RNA interference of *period* and *timeless* in the desert locust *Schistocerca gregaria* [J]. *Insect Molecular Biology*, 2012, 42 (2): 109–115.
- Tobback J, Boerjan B, Vandersmissen HP, et al. The circadian clock genes affect reproductive capacity in the desert locust *Schistocerca gregaria* [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2011, 41 (5): 313–321.
- Tu YQ, Yuan HZ, Qi SH. The effective utilization rate of pesticides and the negative impact of pesticides in China [J]. *World Pesticide*, 2003, 25 (6): 1–4. [屠豫钦, 袁会珠, 齐淑华. 我国农药的有效利用率与农药的负面影响问题 [J]. 世界农药, 2003, 25 (6): 1–4]
- Ueda HR, Matsumoto A, Kawamura M, et al. Genome-wide transcriptional orchestration of circadian rhythms in *Drosophila* [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277 (16): 14048–14052.
- Wang W, Yu Z, Meng J, et al. Rice phenolamides reduce the survival of female adults of the white-backed planthopper *Sogatella furcifera* [J]. *Scientific Reports*, 2020, 10 (1): 5778.
- Wang Y, Li XY, Hu DY, et al. Research and practice on strategies of reducing pesticide application and increasing efficiency in Yunnan Guizhou rice area [J]. *China Plant Protection*, 2017, 37 (2): 69–76. [汪勇, 李向阳, 胡德禹, 等. 云贵稻区农药“减施增效”策略研究与实践 [J]. 中国植保导刊, 2017, 37 (2): 69–76]
- Xu K, Zheng X, Sehgal A. Regulation of feeding and metabolism by neuronal and peripheral clocks in *Drosophila* [J]. *Cell Metabolism*, 2008, 8 (4): 289–300.
- Yang YY, Liu Y, Teng HJ, et al. Circadian control of permethrin-resistance in the mosquito *Aedes aegypti* [J]. *Journal of Insect Physiology*, 2010, 56 (9): 1219–1223.
- Zhou XJ, Yuan CY, Yang XK, et al. Research progress on molecular mechanism of *Drosophila* circadian rhythm [J]. *Advances in Biochemistry and Biophysics*, 2005, 32 (1): 3–8. [周先举, 袁春燕, 杨旭科, 等. 果蝇昼夜节律的分子机制研究进展 [J]. 生物化学与生物物理进展, 2005, 32 (1): 3–8]