

梨星毛虫不同发育阶段转录组及差异表达 基因分析

寇桂香^{1*}, 陈 帅^{1*}, 来有鹏², 何启月¹, 牛 烁¹, 周渊涛^{**}

(1. 青海大学农牧学院, 西宁 810016; 2. 青海省农林科学院植物保护研究所, 西宁 810016)

摘要: 本研究基于转录组学对梨星毛虫*Illiberis pruni*不同生长发育阶段的差异表达基因 (DEGs) 进行筛选和功能注释分析, 揭示与梨星毛虫生长发育相关的关键基因和信号通路。采用高通量测序技术Illumina HiSeq™ 2000检测梨星毛虫幼虫、蛹、成虫转录组差异, 并对测序后筛选出的差异表达基因进行实时荧光定量PCR (RT-qPCR) 验证。结果表明, 转录组数据共获得80 528条Unigene, 其中长度在1 kb以上的Unigene有21 743条, 25 643条Unigene从七大数据库中得到注释, 筛选出12个梨星毛虫不同生长发育阶段的差异表达基因, 且RNA-Seq测序结果与RT-qPCR验证结果一致。研究结果将扩充梨星毛虫生长发育基因数据库信息, 进一步为其在分子水平上的研究提供数据支撑。

关键词: 梨星毛虫; 转录组; 生长发育; 差异表达基因

中图分类号: Q968.1;S433

文献标识码: A

Transcriptome and differential gene expression analyses of different developmental stages of the *Illiberis pruni*

KOU Gui-Xiang^{1*}, CHEN Shuai^{1*}, LAI You-Peng², HE Qi-Yue¹, NIU Shuo¹, ZHOU Yuan-Tao^{1**}

(1. School of Agriculture and Animal Husbandry, Qinghai University, Xining 810016, China; 2. Plant Protection Institute, Qinghai Academy of Agriculture and Forestry Science, Xining 810016, China)

Abstract: The purpose of this study was to analyze the differences in transcriptome data from the transcriptome level, and filter out the differential expressed genes in different growth and development stages of the *Illiberis pruni*. High-throughput sequencing technology Illumina HiSeq™ 2000 was used to detect the transcriptome differences in larvae, pupae and adults of the *I. pruni*, and the differentially expressed genes after sequencing were verified by real-time fluorescence quantitative PCR (RT-qPCR). The results showed that a total of 80 528 Unigenes were obtained from the transcriptome data, among which 21 743 Unigene with a length of more than 1 kb were obtained, 25 643 Unigenes were annotated in the seven major databases, and 12 differential genes of different growth and development stages were screened. The results of RNA-Seq sequencing were consistent with those RT-qPCR. The results of this study will expand

基金项目: 其他 23- (千人计划) 昆仑英才·乡村振兴人才农业农村科技攻关团队 (k9923138)

*作者简介: 寇桂香, 女, 2000年生, 硕士研究生, 研究方向为昆虫化学生态学, E-mail: kgx3272647933@163.com; 陈帅, 男, 1999年生, 硕士研究生, 研究方向为昆虫化学生态学, E-mail: 1809344408@qq.com

**通讯作者 Author for correspondence: 周渊涛, 女, 博士, 副教授, 研究方向为昆虫化学生态学, E-mail: ZhouYT@qhu.edu.cn

收稿日期 Received: 2024-03-25; 接受日期 Accepted: 2024-07-11

the growth and development gene database of the *I. pruni*, and further provide data support for its research at the molecular level.

Key words: *Illiberis pruni*; transcriptome; growth and development; differential expression gene

梨星毛虫 *Illiberis pruni* 属鳞翅目 Lepidoptera 斑蛾科 Zygaenidae, 又名梨叶斑蛾, 是蔷薇科果树的主要害虫之一(吴建霞等, 2016)。该虫广泛分布于北京、山西、安徽、河北、河南等省的梨产区, 幼虫主要取食花芽、幼叶和花蕾, 严重时导致果树的品质和产量下降(张晓芳等, 2017)。在我国北方, 一年发生一代的幼虫在 6 月下旬羽化成虫, 一年发生两代的幼虫持续危害果树, 直至 8 月中上旬出现第 1 代成虫, 再进行产卵繁殖转移至树皮裂缝和土块缝隙中越冬(王根厚等, 2017), 有少部分发育成第 2 代幼虫后危害至 10 月结茧越冬(侯俊梅等, 2013)。梨星毛虫是梨树上的主要害虫, 幼虫蛀食花、芽和嫩叶, 给林果产业经济带来严重威胁。许多学者对梨星毛虫的研究仅是浅层次, 集中于梨树病虫害的发生与防治、毒力测定、梨星毛虫的诊断、发生规律等(吴建霞等, 2016; 闫文涛等, 2020; 王孟等, 2023)。近几年, 有研究者对梨星毛虫进行深层次研究, 抑制剂和激活剂对梨星毛虫中肠蛋白酶活性的影响、线粒体全基因组测序及系统发育分析、性诱剂的田间试验(Liu *et al.*, 2021; 董艳璐等, 2022; Nan *et al.*, 2022)。

转录组测序技术的发展越来越迅速, 基于此获得的转录组数据相当丰富, 对基因信息匮乏的物种而言, 可从中挖掘出有重要功能的基因, 进一步促进非模式生物的功能基因组分析, 同时为研究昆虫物种分类、发育、进化等问题提供数据支撑(Nagalakshmi *et al.*, 2008; 杨帆等, 2014)。目前, 通过转录组测序技术对鳞翅目昆虫基因及功能的研究甚多, 如阿尔泰蝠蛾 *Hepialus altaicola* (孙涛等, 2021)、甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* (Pascual *et al.*, 2008)、青海草原毛虫 *Gynaephora qinghaiensis* (南彦斌等, 2023)、沙棘蠹木蛾 *Eogystia hippophaecolus* (Cui *et al.*, 2017)、斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* (Gu *et al.*, 2013)、加庆网蛱蝶 *Melitaea cinxia* (Cristobal *et al.*, 2017) 等。差异表达基因由多个因素相互作用产生, 包括内部信号传导、外界条件、遗传变异、DNA 甲基化、RNA 剪接等机制, 而这些机制都会影响不同的细胞或组织中同一基因的表达水平, 从而导致不同生物体发育、适应环境变化及形成特定功能。有研究通过转录组测序结果分析昆虫基因的差异表达量情况, 刘世火(2021)研究发现桔小实蝇 *Bactrocera dorsalis* 不同发育阶段转变前后共有 11 708 差异表达基因; 于鹤(2018)研究了西方蜜蜂 *Apis mellifera* 变态发育相关基因 *br-c*、*gce* 和 *usp* 的表达与功能; 李永丽等(2022)对长短光照桃小食心虫 *Carposina sasakii* Matsumura 保幼激素动态及相关基因研究表明桃小食心虫进入圆茧滞育需要 JH 丰度大幅升高的过程, 筛选并分析了 JH 合成代谢相关的 7 个差异表达基因, 为进一步研究桃小进入滞育过程中 JH 调控的分子机制奠定了基础; 杨媛雪等(2023)利用转录组测序技术研究草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 对溴氰虫酰胺的解毒代谢分子机制; 刘香亚等(2022)发现棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 精巢和卵巢中存在 7 714 个差异表达基因, 有 3 288 个差异表达基因的表达水平在卵巢中上调, 4

426 个差异表达基因在精巢中上调;王秀吉等(2022)揭示小线角木蠹蛾 *Streltziella insularis* 幼虫响应不同寄主的差异表达基因,为进一步探究小线角木蠹蛾对寄主的适应机制提供理论依据;梨小食心虫 *Grapholita molesta* 差异表达解毒酶基因的筛选可进一步探究梨小食心虫解毒代谢机制(刘晓庆等, 2023);李殿香等(2010)构建刺激家蝇幼虫差异表达 cDNA 消减文库能够为家蝇免疫相关基因的克隆和家蝇免疫防御机制的探讨奠定基础;烟蚜 *Myzus persicae* 若蚜及有翅和无翅成蚜的翅型研究结果揭示烟蚜翅形成相关基因的总体表达特征(张超等, 2018);成付平等(2022)对中华蜜蜂 *Apis cerana cerana* 精巢和卵巢差异表达基因分析。昆虫的生长发育不仅受基因调控,同时还受其他因素的影响,Cheng 等(2021)研究证实 H3K27me3 修饰通过解除 JH 对 20E 合成的抑制作用来调控昆虫幼虫向蛹的发育转变,揭示昆虫变态发育的表观遗传调控新机制,也为家蚕 *Bombyx mori* 发育性状的遗传操作以及农林害虫的生物防治提供了潜在靶标;Wang 等(2021)研究表明鳞翅目昆虫通过“基因水平转移”从细菌中获得 *SUC* 基因,进而发生基因复制和功能分化,提高了其对食物的适应性和利用效率,增强了体内蔗糖代谢的能力,促进其自身的生长和发育;尹飞等(2023)研究小菜蛾 *Plutella xylostella* 种群杂交对后代生长发育和解毒代谢酶活性的影响;向中文等(2023)研究 8 种十字花科寄主植物真叶和子叶化学成分对小菜蛾生长发育和生理代谢的影响;有研究表明,萜类化合物对植食性昆虫有抑制生长发育的直接或间接防御作用,而且通过这些萜类化合物形成的特异性化学防御系统能够抑制昆虫的生长发育(Loivamaki *et al.*, 2008; Seybold *et al.*, 2008; 王璟廷等, 2023)。目前,梨星毛虫基因数据信息严重匮乏,转录水平上的相关研究甚少,调控其生长发育的代谢通路和基因表达机制尚不清楚。现基于以上理论依据,本研究通过高通量测序技术对梨星毛虫幼虫、蛹、成虫的转录组数据进行分析并筛选出与生长发育相关的差异表达基因进行验证,为探究其生长发育基因表达和功能研究提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

本研究所用梨星毛虫样品于2022年5月份采集自青海省西宁市(101°45'E, 36°43'N),在受害梨树上采集处于幼虫期的样品带回实验室进行饲养,获得处于不同发育阶段的梨星毛虫样品。本试验选择6龄幼虫、蛹和成虫(雌雄混样)3个不同发育阶段的梨星毛虫进行转录组测序,每阶段采取3组重复。

1.2 梨星毛虫样品的测序及组装

梨星毛虫样品文库质量检测合格后,按照目标下机数据量进行Pooling,用Nova seq 6000 平台进行高通量测序,测序读长为PE150。我们得到原始数据后根据碱基质量值(碱基质量值越高表明碱基识别越可靠,准确度越高)能够得到高质量的测序数据。再利用Trinity

(v2.11.0) 软件首先将测序Reads打断为较短的片段 (K-mer)，然后将这些小片段延伸成较长的片段 (Contig)，并利用这些片段之间的重叠，得到片段集合 (Component)，最后利用De Bruijn图的方法和测序Read信息，在各个片段集合中分别识别转录本序列；使用BLAST软件将Unigene序列与Nr、Swiss-Prot、GO、COG、KOG、KEGG、Pfam数据库比对，预测完Unigene的氨基酸序列之后使用HMMER软件与Pfam数据库比对，获得Unigene的注释信息。

1.3 差异表达基因及其功能富集

本研究将测序得到的Reads与Unigenes库进行比对，根据比对结果，结合RSEM进行表达量水平估计。利用Fpkm值相对应Unigene的表达量，以差异倍数 (Fold Change) ≥ 2 ，FDR < 0.05 作为筛选标准，采用DESeq2筛选不同虫态样品组间的差异表达基因。基于梨星毛虫转录组数据，利用Blast软件在GO、COG、KEGG数据库与Unigenes序列进行比对，预测完Unigenes的氨基酸序列后使用HMMER软件与Pfam数据库比对，获得Unigenes的注释信息。

1.4 差异表达基因的鉴定及 RT- qPCR 验证

基于前人对生长发育基因的研究，我们从幼虫、蛹和成虫转录组数据库中筛选出差异表达基因：*AGT3* (自噬基因)、*HSP70* (热休克蛋白)、*IGFBP* (胰岛素样生长因子结合蛋白)、*ISL* (胰岛素基因)、*JHBP* (Juvenile hormone binding protein, 保幼激素结合蛋白)、*USP* (超气膜蛋白)、*JHEH* (Juvenile hormone epoxide hydrolase, 保幼激素环氧水解酶)、*CTSL* (组织蛋白酶)、*AMG1* (结合蛋白复合体)、*SHC1* (巨噬细胞)、*TRETI* (海藻糖转运蛋白)、*Kr-h1* (昆虫变态发育基因)。采用在线网站 ORFfinder (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>)对筛选出的基因序列进行预测得到ORF完整的氨基酸和核苷酸序列，并在NCBI网站进行BLASTn比对 (设定相似性大于60%) 得到相似物种。这些基因在昆虫变态发育过程起重要作用，控制昆虫在不同时期的生长发育及滞育状态 (陈龙, 2018)，同时所选的这12个基因在梨星毛虫不同的发育阶段表达量不同，呈现不同的表达水平。运用Primer5软件设计12对荧光定量PCR引物，以*RPS11* (核糖体蛋白) 为内参基因 (何啟玥等, 2024)。引物序列及相关信息见表2，设3个生物学重复，3个技术重复，扩增程序为95°C 3 min；35个循环 (95°C 30 s, 56°C 30 s, 72°C 40 s)。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法换算目的基因相对表达量。转录组测序中幼虫VS成虫取幼虫为对照、幼虫VS蛹中取幼虫为对照、蛹VS成虫中取蛹为对照。因此，在RT-qPCR验证后处理数据时所取的对照组应与转录组测序中的对照组相同。

表1 实时荧光定量PCR引物

Table 1 Real-time fluorescent quantitative PCR primers

引物名称	引物序列 (5'-3')	产物大小 (bp)
Primer name	Primer sequence	Product size
<i>ATG3</i>	F: TGATGTGCAGGTCGTAGGTT	141
	R: AGGAATCAGGGCTCTTGAC	
<i>HSP70</i>	F: CTGGCTCTTCTTGGTGGTA	136

	R: AGGAGTATTGGCAGGAGACG	
<i>IGFBP</i>	F: TCTCCTGCCACATCTCGTTT R: GTCGAGAAAGCTGCGTTCAA	94
<i>ISL</i>	F: TAAAGCACCGCCTTCTCTCA R: TGATGCGAGCAAAGACGAAG	110
<i>JHBP</i>	F: AGGCGGCTTCAAATTACGAA R: GAATCGTGAACAGGTTGCCA	105
<i>JHEH</i>	F: GGGTTTGGCTTTTCAGAGGG R: CAATCACCCGCATGCACATA	176
<i>USP</i>	F: TCTCCTTGTACACGGTGGAC R: CCATACTCACTGCGCTCAAC	147
<i>CTSL</i>	F: TGCCTTCCAAGAAATGCCAC R: CGTAGTGGATGGCGAACTTG	114
<i>AMG1</i>	F: AATGGAGTGAAGCTGGTGGA R: CGTCGACCTGCTTGATGATG	133
<i>SHC1</i>	F: TCAGACCTCCTCTTCTCCA R: TTTGAAGCGAACTCCGACC	136
<i>TRET1</i>	F: CATAACGACCCGCTAACTCCT R: TTTCAATGGCCGTCAGTTGG	102
<i>Kr-h1</i>	F: ATACGTCACCACAACCGAGT R: TAGTTCGGTTGCGGGTATT	107
<i>RPS11</i>	F: GAGGCTATTGAAGGCACAT R: CGACACCAGTAAGGATACG	85

2 结果与分析

2.1 梨星毛虫转录组测序分析

采用Illumina HiSeq™ 2000高通量测序平台对梨星毛虫完成3个不同发育阶段共9个样品的转录组测序，包括与七大数据库比对后共获得25 643条Unigenes的注释结果，完成基于Unigenes库的基因结构分析。测序共获得58.29 Gb Clean Data，各样品Clean Data均达到5.81 Gb，De novo组装后共获得80 528条Unigenes，其中有21 743条长度达1 kb。梨星毛虫幼虫、蛹和成虫的ReadSum分别为21 707 935（L1、L2、L3求平均值）、21 040 689（P1、P2、P3求平均值）和22 014 009个（FM1、FM2、FM3求平均值）。Q20和Q30碱基百分比分别在90.19%、96.47%及以上。N50的长度为2 079 bp，平均长度为1 307.27 bp。

2.2 Unigene功能注释

选择BLAST参数E-value不大于 10^{-5} ，通过对梨星毛虫的25 643个Unigenes进行注释，各数据库注释统计结果如表2所示。12 136个Unigene注释到GO数据库，25 320个Unigene注释到KEGG数据库，5 375个Unigene注释到COG数据库，12 231个Unigene注释到KOG数据库，

13 243个Unigene注释到Pfam数据库，13 205个Unigene注释到Swissprot数据库，16 367个Unigene注释到Nr数据库。

表2 Unigenes注释统计表

Table 2 Annotation statistics table of Unigene

数据库	注释unigene数目	300<=长度<1 000	长度>=1 000
Database	Note the number of unigene	300<=length<1 000	length>=1 000
COG	5 375	944	4 431
GO	12 136	3 163	8 973
KEGG	25 320	10 772	14 548
KOG	12 231	3 047	9 184
Pfam	13 243	3 039	10 204
Swissprot	13 205	3 461	9 744
Nr	16 367	4 845	11 522
总计	25 643	11 029	14 614

注：300 ≤ Length < 1 000，表示注释到该数据库的长度在300~1 000个碱基之间的Unigene数；Length ≥ 1 000，表示注释到该数据库的长度在1 000个碱基以上的Unigene数。Note: 300 ≤ Length < 1 000, indicated the number of Unigene notes to the database with a length between 300 and 1 000 bases; Length ≥ 1 000, indicated the number of Unigene comments with a length of more than 1 000 bases to the database.

2.3 Unigenes的GO富集分析

GO数据库12 136条Unigenes（占总Unigenes数的47.33%）共得到96 422条功能注释，分别归类到分子功能（13个功能区）、细胞组分（19个功能区）和生物学过程（23个功能区）三大类。其中，生物学过程的Unigenes最多（47 737条），细胞进程和代谢过程的注释序列数占主导地位，分别为8 925和7 179条；细胞组分类别中注释到22 629条Unigenes，细胞和细胞成分的注释序列最多，分别为8 022条和8 002条；分子功能类别中注释到24 603条Unigenes，结合和催化活性注释序列数最多，分别为7 089和5 760条。

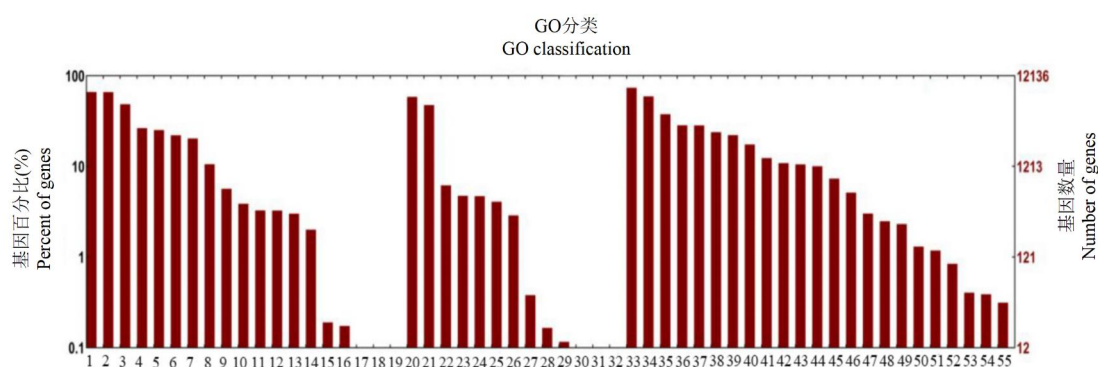


图1 梨星毛虫Unigene的GO功能分类

Fig. 1 GO annotation of unigenes of *Illiberis pruni*

注：1，细胞；2，细胞成分；3，细胞器；4，膜；5，细胞器成分；6，膜成分；7，蛋白质复合物；8，细胞外组分；9，膜封闭腔；10，超分子复合物；11，细胞连接；12，细胞外组成分；13，突出；14，突出组分；15，病毒；16，病毒成分；17，其他生物体；18，其他生物组分；19，拟核；20，结合；21，催化活性；22，转运蛋白活性；23，转录调节活性；24，结构分子活性；25，分子功能调节器；26，分子传感器活性；27，抗氧化活性；28，翻译调节功能；29，转运受体活性；30，分子载体

活性; 31, 营养储存活性; 32, 蛋白标签; 33, 细胞进程; 34, 代谢过程; 35, 生物调节; 36, 发育过程; 37, 多细胞生物过程; 38, 应激反应; 39, 细胞成分组织或生物发生; 40, 定位; 41, 信号; 42, 繁殖; 43, 生殖过程; 44, 多细胞生物过程; 45, 移动; 46, 行为; 47, 生物粘附; 48, 免疫系统过程; 49, 生长; 50, 细胞增殖; 51, 节律过程; 52, 色素沉着; 53, 解毒; 54, 细胞集合; 55, 细胞杀伤。Note: 1, Cell; 2, Cell part; 3, Organelle; 4, Membrane; 5, Organelle part; 6, Membrane part; 7, Protein, containing complex; 8, Extracellular region; 9, Membrane, enclosed lumen; 10, Supramolecular complex; 11, Cell junction; 12, Extracellular region part; 13, Synapse; 14, Synapse part; 15, Virion; 16, Virion part; 17, Other organism; 18, Other organism part; 19, Nucleoid; 20, Binding; 21, Catalytic activity; 22, Transporter activity; 23, Transcription regulator activity; 24, Structural molecule activity; 25, Molecular function regulator; 26, Molecular transducer activity; 27, Antioxidant activity; 28, Translation regulator activity; 29, Cargo receptor activity; 30, Molecular carrier activity; 31, Nutrient reservoir activity; 32, Protein tag; 33, Cellular process; 34, Metabolic process; 35, Biological regulation; 36, Developmental process; 37, Multicellular organismal process; 38, Response to stimulus; 39, Cellular component organization or biogenesis; 40, Localization; 41, Signaling; 42, Reproduction; 43, Reproductive process; 44, Multi, organismal process; 45, Locomotion; 46, Behavior; 47, Biological adhesion; 48, Immune system process; 49, Growth; 50, Cell proliferation; 51, Rhythmic process; 52, Pigmentation; 53, Detoxification; 54, Cell aggregation; 55, Cell killing.

2.4 Unigenes的COG富集分析

对COG数据库有注释的基因进行分类, 5 375条Unigenes共得到6 498条注释归类到25个功能类别中。其中, 一般功能预测和复制重组的基因最多, 分别为(1 734条, 26.69%)和(950条, 14.62%); 其余依次是E类氨基酸转运与代谢, 有476条(7.33%); K类转录, 有437条(6.73%); G类碳水化合物转运与代谢, 有418条(6.44%); J类翻译、核糖体结构和生物合成, 有400条(6.16%); T类信号转导, 有348条(5.36%); O类翻译后修饰、蛋白质周转、分子伴侣, 有371条(5.71%)。其余的都低于350条, W类未命名蛋白质, 有0条。

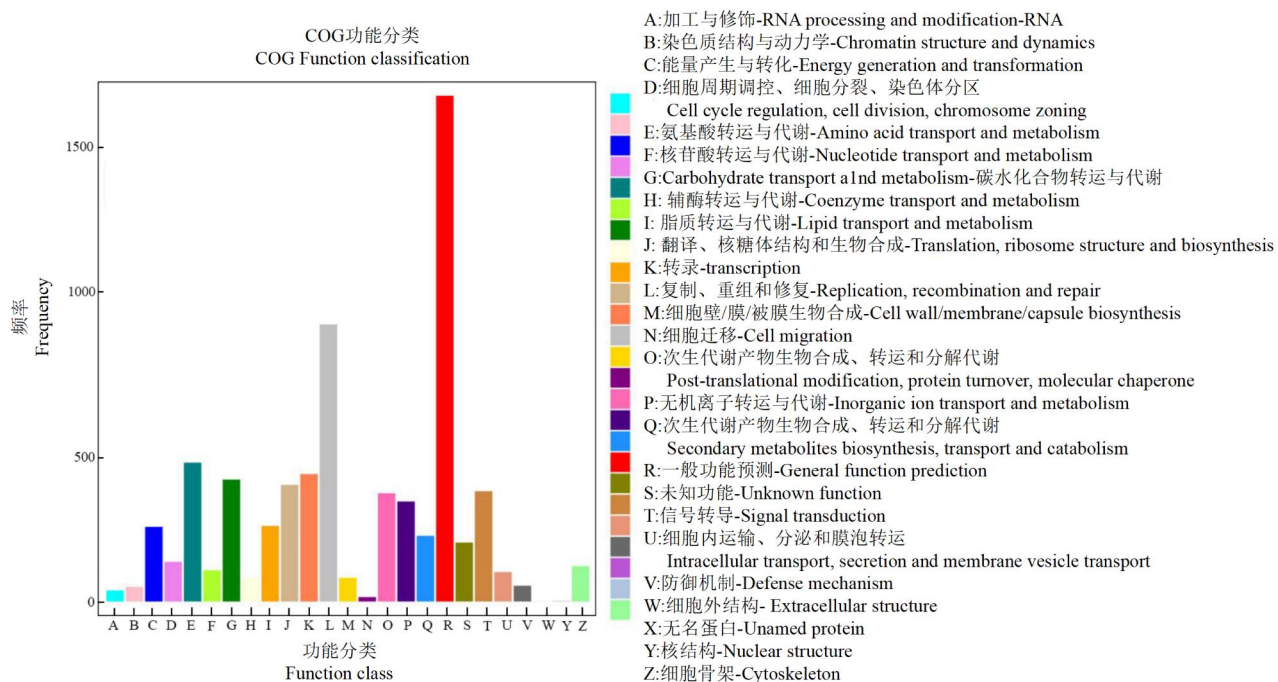


图2 梨星毛虫Unigenes COG 功能分类

Fig. 2 COG annotation of unigenes of *Illiberis pruni*

2.5 Unigenes的KEGG富集分析

将梨星毛虫的Unigenes与KEGG数据库进行对比, 有5 297条Unigene被注释到细胞进程 (Cellular Processes) (679条)、环境信息处理 (Environmental Information Processing) (730条)、遗传信息处理 (Genetic Information Processing) (1 295条)、人类疾病 (Human Diseases) (51条)、新陈代谢 (Metabolism) (2 285条)、有机体系统 (Organismal Systems) (257条) 六大类25个次级功能区中。其中, 新陈代谢通路注释到碳水化合物代谢的最多, 有650条; 细胞进程通路注释到运输和分解代谢的最多, 有607条; 环境信息处理通路注释到信号转导的最多, 有534条; 遗传信息处理通路注释到翻译的最多, 有515个; 人类疾病通路注释到内分泌及代谢疾病51个; 有机体系统通路注释到衰老 (Aging) 最多, 有93条。

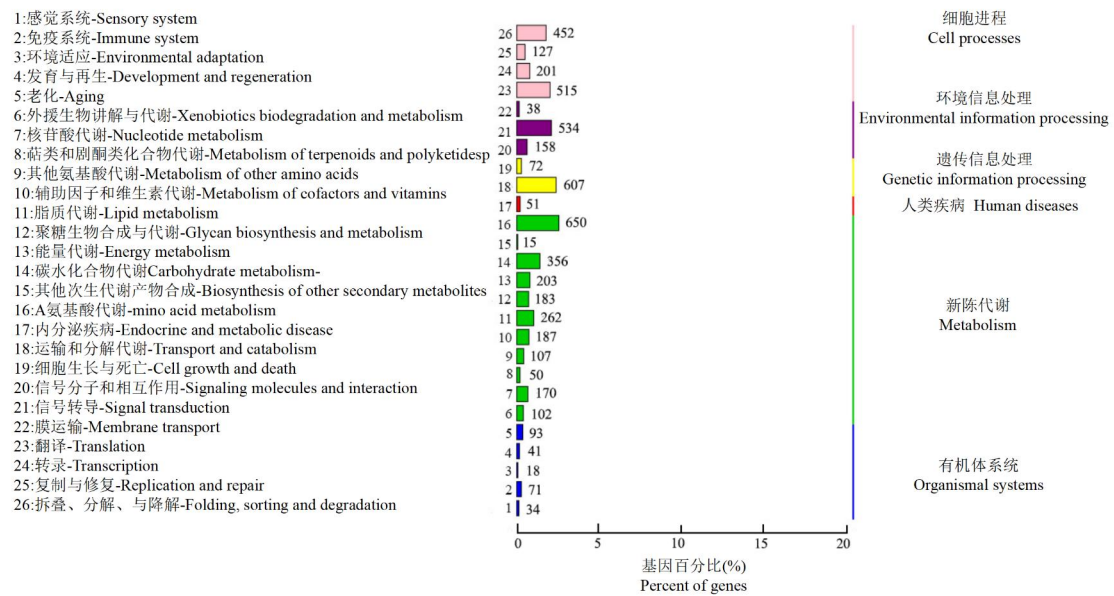


图3 梨星毛虫转录组基因的KEGG通路分析

Fig. 3 KEGG pathway analysis of unigenes of *Illiberis pruni* transcriptome

2.6 差异表达基因数目统计

梨星毛虫3个虫态 (幼虫、蛹和成虫) 中, 幼虫和蛹之间共发现差异表达基因1 438个, 上调基因和下调基因各占比16.27% (234个)和83.73% (1 204个); 蛹和成虫之间得到差异表达基因8 140个, 上调基因和下调基因各占比57.86% (4 710个)和42.14% (3 430个); 幼虫和成虫之间发现差异表达基因8 109个, 上调基因和下调基因各占比52.31% (4 242个)和47.69% (3 867个)。3个虫态共有71个差异表达基因, 结果如表3和图4所示。

表3 梨星毛虫不同虫态间差异表达基因分析结果

Table 3 Analysis results of differentially expressed genes among different stages of the *Illiberis pruni*

类型Type	总计Total	上调Up	下调Down
幼虫VS成虫 L VS FM	8 109	4 242	3 867
幼虫VS蛹 L VS P	1 438	234	1 204
蛹VS成虫 P VS FM	8 140	4 710	3 430

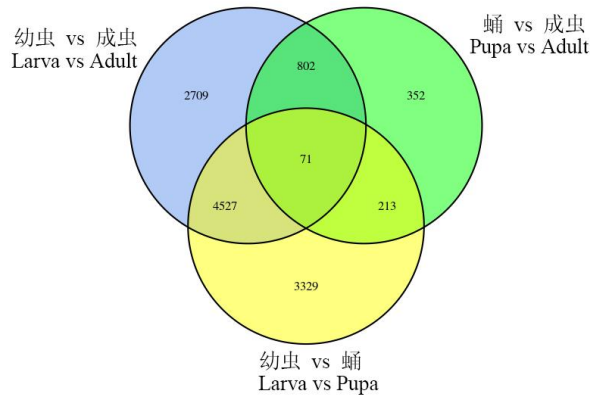


图4 梨星毛虫不同虫态间差异表达基因维恩图

Fig. 4 Venn diagram of differentially expressed genes between different stages of *Illiberis pruni*

2.7 差异表达基因的GO富集分析

梨星毛虫3个虫态（幼虫、蛹和成虫）中，幼虫和成虫、幼虫和蛹及蛹和成虫差异表达基因GO注释的Unigenes分别为23 165条、3 147条和24 785条。其中，幼虫和成虫的差异表达基因富集到细胞组分的Unigenes共有9 099条，细胞（1 970条）和细胞成分（1 963条）占主导地位，细胞器（1 451条）位居其次；富集到分子功能的Unigenes共有3 537条，富集条目最多的是结合（1 631条）和催化活性（1 222条）；富集到生物学进程的Unigenes共有10 529条，富集条目最多的功能分别是代谢过程（1 598条）、细胞进程（1 963条）和生物调节（1 205条）。幼虫和蛹的差异表达基因富集到细胞组分的Unigenes共有1 319条，细胞（271条）和细胞成分（269条）占主要地位；富集到分子功能的Unigenes共有520条，富集条目最多的是结合（221条）和催化活性（207条）；富集到生物学进程的Unigenes共有1 308条，代谢过程（216条）和细胞进程（256条）的条目最多。蛹和成虫的差异表达基因富集到细胞组分的Unigenes共有9 610条，细胞（2 119条）和细胞成分（2 114条）占主要地位，细胞器（1 560条）位居其次；富集到分子功能的Unigenes共有3 797条，富集条目最多的是结合（1 759条）和催化活性（1 230条）；富集到生物学进程的Unigenes共有11 378条，代谢过程（1 650条）和细胞进程（2 099条）的条目最多。分析结果显示：幼虫和成虫、幼虫和蛹及蛹和成虫差异表达基因GO注释到细胞组分、分子功能和生物学进程三大类的主要功能均相等，且富集条目在这三大类中占主要地位（图5）。

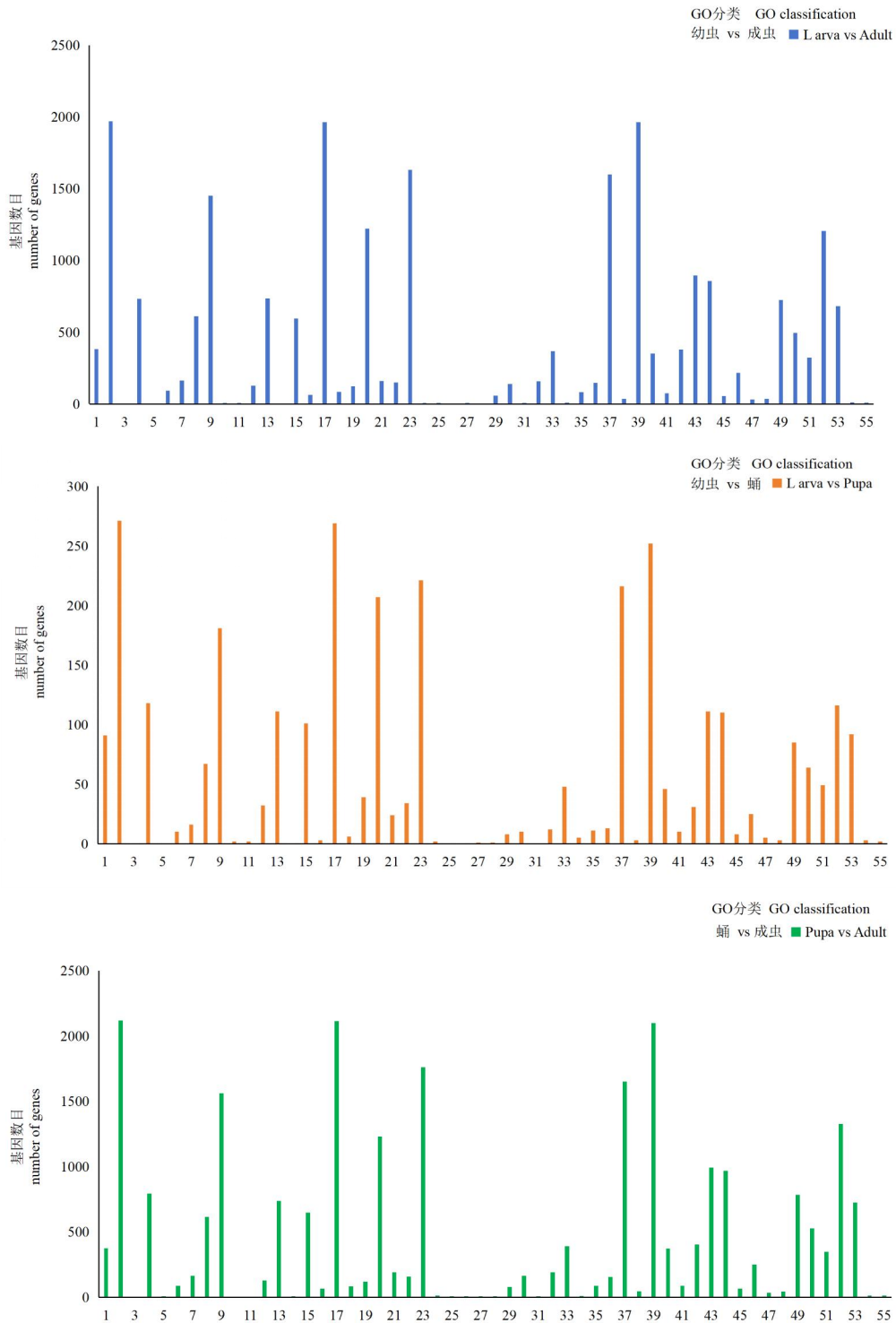


图5 梨星毛虫差异表达基因的GO功能分类

Fig. 5 GO functional classification of differentially expressed genes in *Illiberis pruni*

注：1，细胞外组分；2，细胞；3，拟核；4，膜；5，病毒；6，细胞连接；7，膜封闭腔；8，蛋白质复合物；9，细胞器；10，其他生物体；11，其他生物组分；12，细胞外组分成分；13，细胞器成分；14，病毒成分；15，膜成分；16，突出组分；17，细胞成分；18，突出；19，超分子复合物；20，催化活性；22，转运蛋白活性；23，结合；24，抗氧化活性；25，蛋白标签；26，转运受体活性；27，翻译调节功能；28，营养储存活性；29，分子传感器活性；30，分子功能调节器；31，分子载体活性；32，转录调节活性；33，繁殖；34，细胞杀伤；35，免疫系统过程；36，行为；37，代谢过程；38，细胞增殖；39，细胞进程；40，生殖过程；41，生物粘附；42，信号；43，多细胞生物过程；44，发育过程；45，生长；46，移动；47，色素沉着；48，节律过程；49，应激反应；50，定位；51，多细胞生物过程；52，生物调节；53，细胞成分组织或生物发生；54，细胞集合；

55, 色素沉着。Note: 1, Extracellular region; 2, Cell; 3, Nucleoid; 4, Membrane; 5, Virion; 6, Cell junction; 7, Membrane, enclosed lumen; 8, Protein, containing complex; 9, Organelle; 10, Other organism; 11, Other organism part; 12, Extracellular region part; 13, Organelle part; 14, Virion part; 15, Membrane part; 16, Synapse part; 17, Cell part; 18, Synapse; 19, Supramolecular complex; 20, Catalytic activity; 21, Structural molecule activity; 22, Transporter activity; 23, Binding; 24, Antioxidant activity; 25, Protein tag; 26, Cargo receptor activity; 27, Translation regulator activity; 28, Nutrient reservoir activity; 29, Molecular transducer activity; 30, Molecular function regulator; 31, Molecular carrier activity; 32, Transcription regulator activity; 33, Reproduction; 34, Cell killing; 35, Immune system process; 36, Behavior; 37, Metabolic process; 38, Cell proliferation; 39, Cellular process; 40, Reproductive process; 41, Biological adhesion; 42, Signaling; 43, Multicellular organismal process; 44, Developmental process; 45, Growth; 46, Locomotion; 47, Pigmentation; 48, Rhythmic process; 49, Response to stimulus; 50, Localization; 51, Multi, organism process; 52, Biological regulation; 53, Cellular component organization or biogenesis; 54, Cell aggregation; 55, Detoxification

2.8 差异表达基因的KEGG富集分析

梨星毛虫3个虫态（幼虫、蛹和成虫）中，幼虫和成虫、蛹和成虫及幼虫和蛹差异表达基因KEGG注释的Unigenes分别为1 224条、1 246条和189条。其中，幼虫和成虫的差异表达基因在KEGG通路中富集条目最多的是运输和分解代谢（144条）、信号转导（158条）和翻译（133条）。蛹和成虫的差异表达基因在KEGG通路中富集条目最多的是运输和分解代谢（149条）、信号转导（161条）和翻译（132条），与幼虫和成虫差异表达基因在KEGG的富集通路相等。幼虫和蛹的差异表达基因在KEGG通路中富集条目最多的是能量代谢（30条）、碳水化合物代谢（22条）和运输和分解代谢（23条）（图6，图7）。

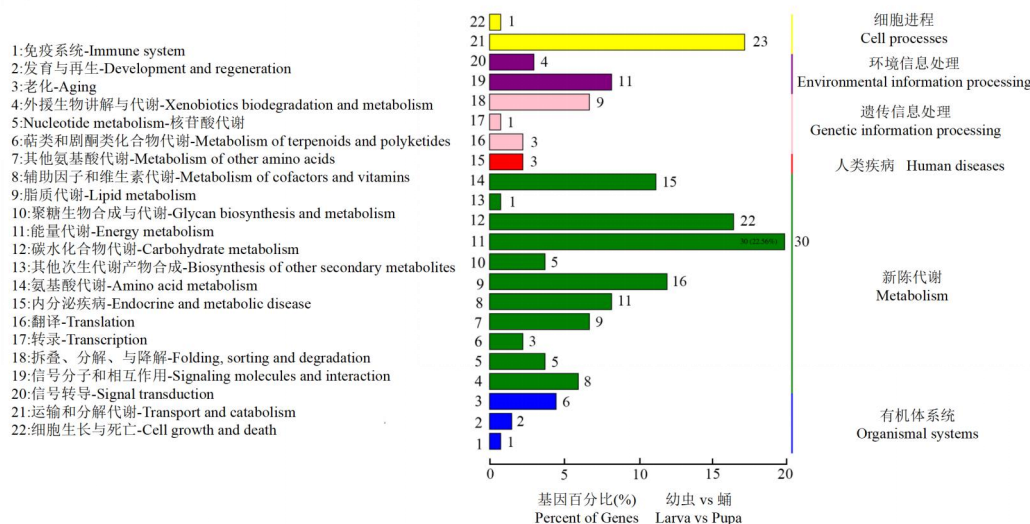
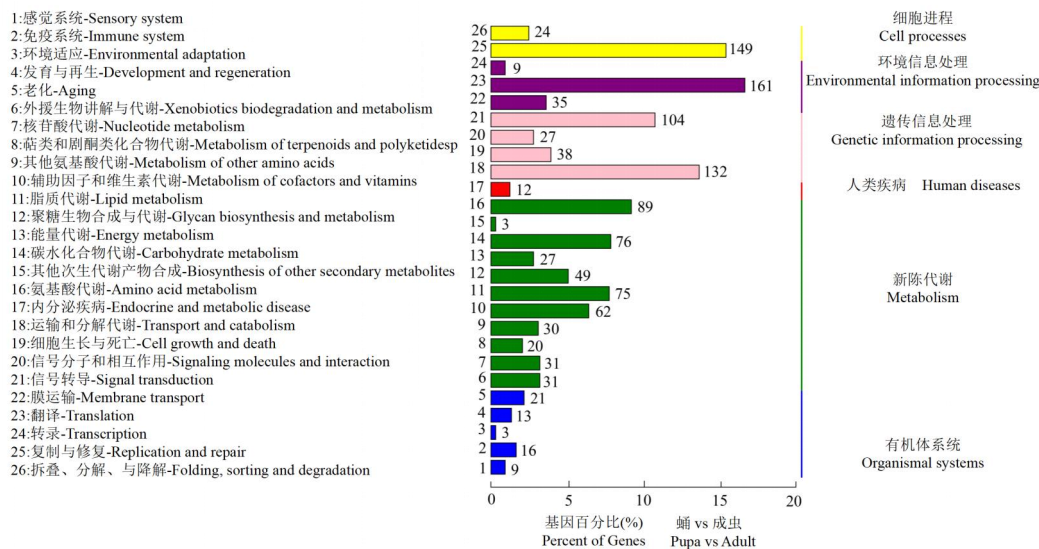
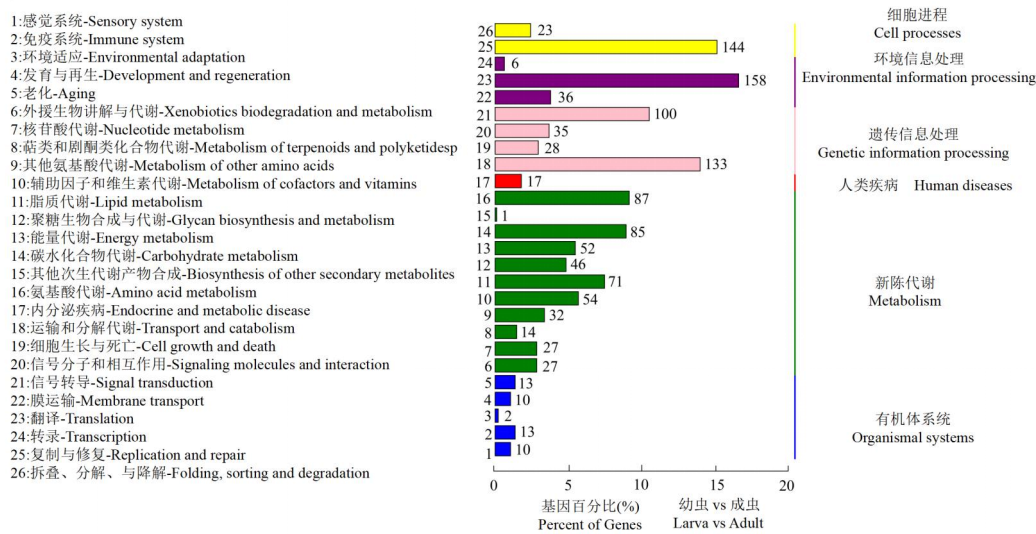


图6 梨星毛虫差异表达基因的KEGG通路分析

Fig. 6 KEGG pathway analysis of differentially expressed genes in *Illiberis pruni*

2.9 差异表达基因的RT-qPCR结果分析

本研究筛选出12个生长发育基因的RT-qPCR检测结果与RNA测序结果的表达水平变化趋势一致，证实RNA测序结果可信，可进行下一步差异表达基因表达分析（图7）。

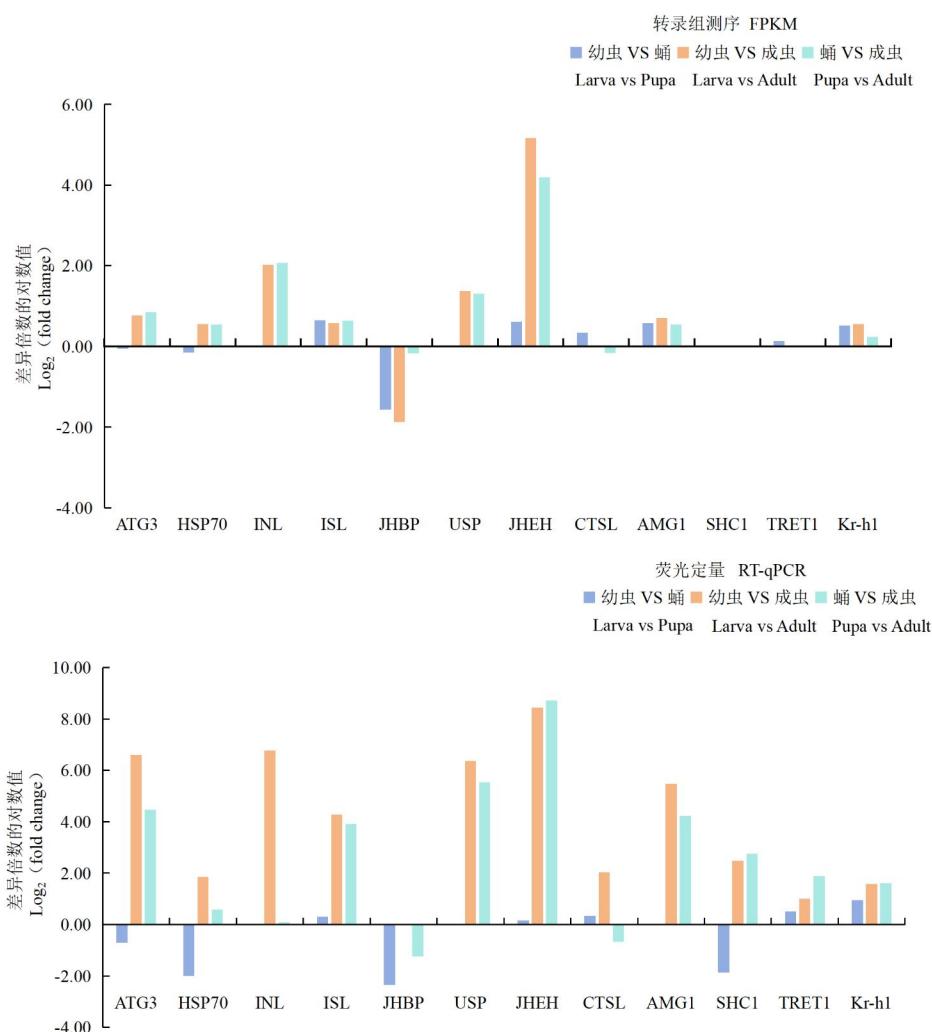


图7 梨星毛虫生长发育的差异表达基因RNA-Seq测序结果的RT-qPCR验证

Fig.7 RT-qPCR verification of DEGs RNA-Seq sequencing results of growth and development of the *Illiberis pruni*

3 结论与讨论

本研究通过Illumina HiSeq™ 2000测序技术对不同生长发育阶段的梨星毛虫进行转录组测序和差异表达分析并筛选出生长发育相关基因，为后续分子研究奠定基础。转录组测序共获得80 528条Unigene，N50的长度为2 079 bp，平均长度为1 307.27 bp，说明组装得到的序列完整性较高（胡俊杰等，2017）；Q20和Q30碱基百分比分别在90.19%、96.47%及以上，测序质量可靠（杜炫星等，2023）。因此，本研究的测序数据组装质量、长度满足转录组和差异表达基因分析的基本要求。

GO注释主要富集功能是细胞进程和代谢过程，昆虫的生长发育离不开细胞代谢，此注释通路能够促进其生长发育。COG数据库的基因注释归类到25个功能类别中，一般功能预测和复制重组的基因最多，KEGG数据库注释到细胞过程、环境信息处理、遗传信息处理、人类疾病、新陈代谢、有机体系统六大类25个次级功能区中。本研究筛选出的12个生长发育基因*ATG3*、*HSP70*、*IGFBP*、*ISL*、*JHBP*、*USP*、*JHEH*、*CTSL*、*AMG1*、*SHC1*、*TRET1*、*Kr-h1*进行验证后与RNA-seq测序结果相符。其中，幼虫和蛹之间有6个上调基因，6个下调基因；幼虫和蛹之间有11个上调基因，1个下调基因；蛹和成虫之间有10个上调基因，2个下调基因。*Kr-h1*是控制昆虫变态发育的关键基因，其本身的磷酸化位点及其激素调控，也已证明在昆虫中是进化保守的（He *et al.*, 2022; 王欢等, 2023），推测该基因在梨星毛虫生长发育过程中能够控制其变态发育。*ATG3*、*SHC1*基因与自噬细胞和吞噬细胞有关，是主要的细胞内降解和再循环过程，形成吞噬团的环状膜结构后启动（Nihsimura *et al.*, 2024），推测该基因能够吞噬或降解梨星毛虫生长发育过程中产生的废弃物。*JHBP*和*JHEH*是保幼激素类相关基因，按照昆虫的不同发育时期，昆虫滞育分为胚胎滞育（卵滞育）、幼虫滞育、蛹滞育和成虫滞育。在多种昆虫的滞育研究中，JH被认为是一种重要激素，在成虫滞育调控中发挥作用（Jindra *et al.*, 2013）。*JHBP*基因在3个发育期均表现为下调，可能是该基因在幼虫期参与保持幼虫形态，在成虫期调控性发育和繁殖的原因（闫丽琼等, 2019）。因此，推测*JH*基因在梨星毛虫的3个生长发育阶段起滞育、调控性发育及繁殖等作用。*IGFBP*和*ISL*属胰岛素类相关基因，是细胞增殖必不可少的调控因子，可有效调控细胞生长因子活性，能够反映细胞活性（丁娟等, 2023），推测这两类基因在梨星毛虫的3个生长发育阶段中能够促进细胞的生长和繁殖。*HSP70*基因在幼虫和成虫期表现为上调，蛹期表现为下调，有研究表明，热激蛋白与滞育的关系十分密切，拟麻蝇*Satcophaga crassipalpis*滞育期间Hsp70（热激蛋白）特异性表达，而Hsp90（热休克蛋白）的表达量很低（Rinehart *et al.*, 2000）；果蝇*Drosophila triauraria*的Hsp23和Hsp26在滞育调节系统中没有起到任何作用（Goto *et al.*, 2004），这些研究结果与本研究大不相同，可能是因为不同昆虫及不同热激蛋白家族对滞育的影响不同，导致在不同昆虫滞育期间的表达量不同，因此，这个问题还需进一步研究。*TRET1*（海藻糖酶）分为可溶性海藻糖酶与膜结合型海藻糖酶两类。昆虫的可溶性海藻糖酶基因和膜结合型海藻糖酶基因分别在黄粉虫*Tenebrio molitor*（Takiguchi *et al.*, 1992）和家蚕（Mitsumasu *et al.*, 2005）中首次克隆获得。海藻糖酶能够水解海藻糖为葡萄糖、为昆虫生长发育提供能量、调控几丁质代谢等从而影响昆虫发育（Tang *et al.*, 2016; Zhao *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2017）。*CTSL*基因在蛹期和成虫期均上调，幼虫期下调，但在蛹期的表达量要高于成虫期。其他基因在着3个时期的表达量都上调，而这些基因在除梨星毛虫以外的鳞翅目昆虫中的相关作用研究甚少。因此，若要将梨星毛虫的这些基因与其他昆虫做对比，还需进一步研究。综上所述，我们阐明了梨星毛虫3个生长发育阶段差异表达基因的富集功

能和富集通路，并对筛选出来的差异基因进行RT-qPCR验证，单个基因进行其作用分析。基于此，对本研究的12个生长发育基因在梨星毛虫生长发育中的作用进行功能推测。

本研究以梨星毛虫幼虫为研究对象，通过转录组测序后得到丰富的转录本信息。对转录组数据进行GO注释、COG注释、KEGG通路富集分析，并将筛选出的差异表达基因实时荧光定量PCR验证。验证结果表明，幼虫和蛹之间有6个上调基因，6个下调基因；幼虫和蛹之间有11个上调基因，1个下调基因；蛹和成虫之间有10个上调基因，2个下调基因。研究结果不仅在转录水平丰富梨星毛虫的基因数据信息，而且为探究其分子水平机制奠定基础。

参考文献 (References)

- Chen J, Tang B, Chen HG, *et al.* Different functions of the insect soluble and membrane-bound trehalase genes in chitin biosynthesis revealed by RNA interference [J]. *PLoS ONE*, 2017, 5 (4): e10133
- Chen L. Research on the Molecular Mechanisms of Summer Diapause in the *Galeruca daurica* Adults by RNA-Seq [D]. Inner Mongolia Agricultural University, 2018. [陈龙. 基于转录组测序的沙葱萤叶甲成虫夏滞育分子机理的研究 [D]. 内蒙古农业大学, 2018]
- Cheng DJ. Histone H3K27 methylation-mediated repression of hairy regulates insect developmental transition by modulating ecdysone biosynthesis [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2021, 118 (35): e2101442118.
- Cheng FP, Yuan F, Yuan F, *et al.* Analysis of differentially expressed genes in testes and ovaries of *Apis cerana cerana* (Hymenoptera: Apidae) [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2022, 65 (2): 167-175. [成付平, 袁芳, 席芳贵, 等. 中华蜜蜂精巢和卵巢差异表达基因分析 [J]. 昆虫学报, 2022, 65 (2): 167-175]
- Cristobal VJ, Wheat CW, Fescemyer HW, *et al.* Rapid transcriptome characterization for a nonmodel organism using 454 pyrosequencing [J]. *Molecular Ecology*, 2008, 17 (7): 1636-1647.
- Cui MM, Hu P, Wang T, *et al.* Differential transcriptome analysis reveals genes related to cold tolerance in seabuckthorn carpenter moth, *Eogystia hippophaecolus* [J]. *PLoS ONE*, 2017, 12 (11): e0187105.
- Ding J, Mo JH. Relationships between serum levels of insulin-like growth factor and insulin-like growth factor binding protein-6 and disease activity of rheumatoid arthritis [J]. *The Journal of Traditional Chinese Orthopedics and Traumatology*, 2023, 35 (11): 10-13. [丁娟, 莫基浩. 胰岛素样生长因子II及胰岛素样生长因子结合蛋白-6血清水平与类风湿关节炎疾病活动度的关系研究 [J]. 中医正骨, 2023, 35 (11): 10-13]
- Dong YL, Zhang ZL, Wu JB, *et al.* Effects of inhibitors and activators on protease activity in the midgut of *Illiberis pruni* [J]. *Acta Agriculturae Boreali Occidentalis Sinica*, 2022, 31 (9) : 1235-1241. [董艳璐, 张战利, 吴江波, 等. 抑制剂和激活剂对梨星毛虫中肠蛋白酶活性的影响 [J]. 西北农业学报, 2022, 31 (9): 1235-1241]
- Du XX, Niu MM, Zhao Q, *et al.* Analysis of the transcriptome and development of SSR Loci in *Pseudaulacaspis prunicola* (Maskell) [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2023, 45 (5): 1318-1332. [杜炫星, 牛敏敏, 赵清, 等. 李白盾蚧转录组分析及SSR位点开发 [J]. 环境昆虫学报, 2023, 45 (5): 1318-1332]
- Goto SG, Kimura MT. Heat-shock-responsive genes are not involved in the adult diapause of *Drosophila triauraria* [J]. *Gene*, 2004, 326: 117-122.
- Gu J, Huang LX, Gong YJ, *et al.* De novo characterization of transcriptome and gene expression dynamics in epidermis during the larval-pupal metamorphosis of common cutworm [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2013, 43 (9): 794-808.
- He QY, Yan JY, Zhou YT. Selection and verification of the reference genes in *Illiberis pruni* (Lepidoptera: Zygaenidae) [J/OL]. *Journal of Gansu Agricultural University*, 2024, 1-12. [何啟玥, 闫京艳, 周渊涛. 梨星毛虫内参基因的筛选与验证 [J]. 甘肃农业大学学报, 2024, 1-12]
- He QY, Zhang YX. Kr-h1, a cornerstone gene in insect life history [J]. *Frontiers in Physiology*, 2022, 13: 905441.
- Hou JM, Xu KF, Zhang HY, *et al.* Occurrence and control of three kinds of leaf eating pests in pear trees [J]. *Modern Rural Science and Technology*, 2013, 15: 23-24. [侯俊梅, 徐克锋, 张海艳, 等. 梨树三种食叶害虫的发生与防治 [J]. 现代农村科技, 2013, 15: 23-24]
- Hu JJ, Meng X, Zhou JB, *et al.* Transcriptome analysis of the cotton mealybug, *Phenacoccus solenopsis* (Hemiptera: Pseudococcidae) [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2017, 60 (1): 9-17. [胡俊杰, 孟翔, 周佳滨, 等. 扶桑绵粉蚧转录组分析 [J]. 昆虫学报, 2017, 60 (1): 9-17]

- Jindra M, Palli RS, Riddiford ML. The juvenile hormone signaling pathway in insect development [J]. *Annual Review of Entomology*, 2013, 58 (1): 181-204.
- Li DX, Kang CJ, Zhang E, *et al.* Construction of a suppression subtractive hybridizationc DNA library identify differen tially expressed genes from *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) larvae [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2010, 53 (6): 601-610. [李殿香, 康翠洁, 张伟, 等. 家蝇幼虫消减文库的构建及差异表达基因的鉴定 [J]. 昆虫学报, 2010, 53 (6): 601-610]
- Li YL, Zhou Z, Yin XM. Dynamic changes of juvenile hormone and differential expression of related genes in off-fruit larvae of *Carposina sasakii* (Lepidoptera: Carposinidae) under different photoperiod [J]. *Journal of Henan Agricultural University*, 2022, 56 (2): 262-269. [李永丽, 周洲, 尹新明. 长短光照桃小食心虫保幼激素动态及相关基因在脱果时的表达差异 [J]. 河南农业大学学报, 2022, 56 (2): 262-269]
- Liu HX, Xu SL, Dou R, *et al.* Field trials of synthetic sex attractants of *Illiberis pruni* in China [J]. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 2021, 169 (7): 640-645.
- Liu SH. Transcriptome Analysis of the Transitions between Different Developmental Stagesand Functional Study of Chitinase Genes in *Bactrocera dorsalis* [D]. Southwest University, 2021. [刘世火. 桔小实蝇发育阶段转变前后转录组分析及几丁质酶基因功能研究 [D]. 西南大学, 2021]
- Liu XQ, Pang QE, Ji JY, *et al.* Sequencing of transcriptome and screening of differentially expressed detoxifying enzyme genes of *Grapholita molesta* treated with insecticides [J]. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2023, 51 (11): 1233-1244. [刘晓庆, 庞钦玮, 冀佳悦, 等. 杀虫剂处理的梨小食心虫转录组测序分析及差异表达解毒酶基因筛选 [J]. 山西农业科学, 2023, 51 (11): 1233-1244]
- Liu XY, Jiang T, Xaio HJ, *et al.* Comparative transcriptome analysis of sex-biased genes in the ovary and testis of *Helicoverpa armigera* [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2022, 59 (2): 333-344. [刘香亚, 江婷, 肖海军, 等. 棉铃虫雌性腺转录组的比较分析 [J]. 应用昆虫学报, 2022, 59 (2): 333-344]
- Loivamaki M, Mumm R, Dlicke M, *et al.* Isoprene interferes with the attraction of bodyguards by herbaceous plants [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105 (45): 17430-17435.
- Mitsumasa K, Azuma M, Niimi T, *et al.* Membrane-penetrating trehalase from silkworm *Bombyx mori*. Molecular cloning and localization in larval midgut [J]. *Insect Molecular Biology*, 2005, 14 (5): 501-508.
- Nagalakshmi U, Wang Z, Waern K, *et al.* The transcriptional landscape of the yeast genome defined by RNA sequencing [J]. *Science*, 2008, 320 (5881): 1344-1349.
- Nan YB, Peng JG, Cheng KX, *et al.* The complete mitochondrial genome and phylogenetic analysis of *Illiberis pruni* Dyar, 1905 (Lepidoptera: Zygaenidae) [J]. *Mitochondrial DNA Part B Resources*, 2022, 7 (6): 1018-1020.
- Nan YB, Xu JC, He QY, *et al.* Analysis of microsatellite loci from *Gynaephora qinghaiensis* based on transcriptome database [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2023, 31 (9): 2653-2662. [南彦斌, 许嘉诚, 何啟玥, 等. 青海草原毛虫转录组分析及SSR位点开发 [J]. 草地学报, 2023, 31 (9): 2653-2662]
- Nishimura T, Lazzeri G, Tooze SA, *et al.* ATG3 proteins possess a unique amphipathic α -helix essential for the Atg8/LC3 lipidation reaction [J]. *Autophagy*, 2024, 20 (1):212-213.
- Pascual, Jakubowska AK, Blarnca JM, *et al.* The transcriptome of *Spodoptera exigua* larvae expost ed to different types of microbes [J]. *Insect Biochemistry and Molecullar Biology*, 2012, 42 (8): 557-570.
- Rinehart JP, Yocum GD, Denlinger DL. Developmental upregulation of inducible hsp70 transcripts, but not the cognate form, during pupal diapause in the flesh fly, *Sarcophaga crassipalpis* [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2000, 30 (6): 515-521.
- Seybold SJ, Huber DPW, Lee JC, *et al.* Pine monoterpenes and pine bark beetles: A marriage of convenience for defense and chemical communication [J]. *Phytochemistry Reviews*, 2006, 5: 143-178.
- Sun T, Zhang SY, Wang Y, *et al.* Transcriptome analysis of *Hepialus altaicola* (Lepidoptera: Hepialidae) larvae based on high throughput sequencing [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2021, 43 (6): 1493-1503. [孙涛, 张示渊, 王岩, 等. 基于高通量测序的阿尔泰蝠蛾(鳞翅目: 蝠蛾科) 幼虫转录组分析 [J]. 环境昆虫学报, 2021, 43 (6): 1493-1503]
- Taiguchi M, Niimi T, Su ZH, *et al.* Trehalase from male accessory gland of an insect, *Tenebrio molitor* cDNA sequencing and developmental profile of the gene expression [J]. *Biochemical Journal*, 1992, 288 (1): 19-22.
- Tang B, Yang MM, Shen QD, *et al.* Suppressing the activity of trehalase with validamycin disrupts the trehalose and chitin biosynthesis pathways in the rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens* [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2016, 137: 81-90.
- Wang GH. Occurrence rule and control technology of *Illiberis pruni* [J]. *Hebei Fruits*, 2017, 5: 49-50. [王根厚. 梨星毛虫发生规律与防治技术 [J]. 河北果树, 2017, 5: 49-50]
- Wang H, Chen YM, Li K, *et al.* Bioinformatic analysis of insect Kr-h1 gene [J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2023, 39 (4): 985-994. [王欢, 陈煜民, 李凯, 等. 昆虫Kr-h1基因的生物信息学分析 [J]. 中国生物防治学报, 2023, 39 (4): 985-994]

- Wang HB. Horizontal gene transfer and gene duplication of β -fructofuranosidase confer lepidopteran insects metabolic benefits [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2021, 38 (7): 2897-2914.
- Wang JT, Li SG, Zuo Z, *et al.* Growth, development and the resistance gene transcriptional expression of *Pagiophloeus tsushmanus* (Coleoptera: Curculionidae) larvae after feeding on linalool and eucalyptol [J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2023, 59 (5): 109-120. [王璟廷, 李寿银, 左壮, 等. 芳樟醇、桉叶油素取食胁迫下香樟齿喙象(鞘翅目: 象甲科)幼虫的生长发育及抗性基因的转录表达 [J]. 林业科学, 2023, 59 (5): 109-120]
- Wang M, Deng P, He N, *et al.* Occurrence and control of pear tree pests and diseases [J]. *Contemporary Horticulture*, 2016, 15: 142-144. [王孟, 邓朋, 何楠, 等. 梨树病虫害的发生与防治 [J]. 现代园艺, 2016, 15: 142-144]
- Wang XJ, Feng YQ, Xu YB, *et al.* Transcriptomics analysis of *Streltziella insularis staudinger* larvae (Lepidoptera, Cossidae) adapting to different hosts [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2022, 59 (2): 345-357. [王秀吉, 冯宇倩, 续亚贝, 等. 小线角木蠹蛾幼虫适应不同寄主的转录组学分析 [J]. 应用昆虫学报, 2022, 59 (2): 345-357]
- Wu JX, Ma YF, Zhu HY *et al.* The toxicity determination of 8 insecticides on the larvae of *Illiberis pruni* [J]. *Journal of Gansu Forestry Science and Technology*, 2016, 41 (4): 29-31. [吴建霞, 马艳芳, 朱惠英, 等. 8种杀虫剂对梨星毛虫幼虫的毒力测定 [J]. 甘肃林业科技, 2016, 41 (4): 29-31]
- Xiang ZW, Zhu JY, Liu TX, *et al.* Chemical composition of true leaves and cotyledons of eight cruciferous host plants and their effects on growth, development and physiological metabolism of diamondback moth *Plutella xylostella* [J]. *Journal of Plant Protection*, 2023, 50 (4): 1042-1054. [向中文, 朱经云, 刘同先, 等. 八种十字花科寄主植物真叶和子叶的化学成分及其对小菜蛾生长发育及生理代谢的影响 [J]. 植物保护学报, 2023, 50 (4): 1042-1054]
- Yan LQ, Tang F, Gong SQ, *et al.* Cloning of juvenile hormone binding protein genes in *Lymantria dispar* and its response to CO₂ stresses [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2019, 41 (6): 1339-1347. [闫丽琼, 汤方, 龚尚骞, 等. 舞毒蛾保幼激素结合蛋白家族基因克隆及对CO₂胁迫的响应 [J]. 环境昆虫学报, 2019, 41 (6): 1339-1347]
- Yan WT, Zahng HJ, Yue Q, *et al.* Practical technique of diagnosis and control of *Illiberis pruni* in Liyuan [J]. *Fruit Tree Practical Technology and Information*, 2020, 10: 39-40. [闫文涛, 张怀江, 岳强, 等. 梨园梨星毛虫的诊断与防治实用技术 [J]. 果树实用技术与信息, 2020, 10: 39-40]
- Yang F, Huang LH, Zhang AB. High-throughput transcriptome sequencing technology and its applications in Lepidoptera [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2014, 57 (8): 991-1000. [杨帆, 黄立华, 张爱兵. 高通量转录组测序技术及其在鳞翅目昆虫上的应用 [J]. 昆虫学报, 2014, 57 (8): 991-1000]
- Yang YX, Wang AY, Zhang Y, *et al.* Transcriptome sequencing reveals the molecular mechanism of detoxification metabolism induced by cyantraniliprole in fall armyworm *Spodoptera frugiperda* [J]. *Journal of Plant Protection*, 2023, 50 (3): 800-811. [杨媛雪, 王爱玉, 张芸, 等. 基于转录组测序解析草地贪夜蛾对溴虫酰胺的解毒代谢分子机制 [J]. 植物保护学报, 2023, 50 (3): 800-811]
- Yin F, Ge TC, Xiao Y, *et al.* Effects of hybridization on growth and development and detoxification metabolic enzyme activity of *Plutella xylostella* progenies [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2023, 39 (27): 126-132. [尹飞, 葛天成, 肖勇, 等. 小菜蛾种群杂交对后代生长发育和解毒代谢酶活性的影响 [J]. 中国农学通报, 2023, 39 (27): 126-132]
- Yu H. The Expression and Function of Metamorphosis Development Related Genes br-c, gce and usp in *Apis mellifera* [D]. Fujian Agriculture and Forestry University, 2018. [于鹤. 西方蜜蜂 (*Apis mellifera*) 变态发育相关基因 br-c、gce 和 usp 的表达与功能 [D]. 福建农林大学, 2018]
- Zhang C, Yang H, Yang MF, *et al.* Differences in transcriptome and the expression of wing type related genes in nymphs and winged and apterous adults of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2018, 61 (2): 156-167. [张超, 杨洪, 杨茂发, 等. 烟蚜若蚜及有翅和无翅成蚜转录组及翅型相关基因的表达差异分析 [J]. 昆虫学报, 2018, 61 (2): 156-167]
- Zhang XF, Liu HM, Zhang AH, *et al.* Pear leaf volatiles and their electroantennogram responses to *Illiberis pruni* [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2017, 45 (9): 145-148. [张晓芳, 刘红敏, 张爱红, 等. 梨树挥发物成分的鉴定及其对梨叶斑蛾的触角电位反应 [J]. 安徽农业科学, 2017, 45 (9): 145-148]
- Zhao LN, Yang MM, Shen QD, *et al.* Functional characterization of three trehalase genes regulating the chitin metabolism pathway in rice brown planthopper using RNA interference [J]. *Scientific Reports*, 2016, 6 (1): 278.