



# 梨星毛虫性信息素合成酶基因的鉴定及表达模式分析

何启玥<sup>1</sup>, 南彦斌<sup>1</sup>, 来有鹏<sup>2</sup>, 刘占玲<sup>1</sup>, 张潇允<sup>1</sup>, 周渊涛<sup>1\*</sup>

(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:** 鉴定分析梨星毛虫 *Illiberis pruni* 性信息素合成酶基因, 为探索其性信息素合成分子机制提供理论依据。基于梨星毛虫雌雄腹部及雌翅转录组数据, 筛选鉴定性信息素合成酶基因并进行生物信息学分析, 利用实时荧光定量 PCR 分析其在雌雄成虫不同组织中的表达情况。共鉴定出 21 个性信息素合成酶基因 (3 个 *Dess*、2 个 *FARs*、1 个 *FAS*、10 个 *ACTs*、3 个 *ACCs* 和 2 个 *ARs*) , 生物信息学分析发现这些基因蛋白质分子质量差异较大, 属于不稳定蛋白; 亚细胞定位显示其蛋白主要位于细胞质和线粒体中; 系统发育树结果推测梨星毛虫 *ACCs* 基因和 *ACTs* 基因与小线角木蠹蛾和黑脉金斑蝶的性信息素相关基因亲缘关系较近; 通过 RT-qPCR 分析表明 16 个基因表现为雌性翅偏向表达, 7 个基因在雌性腹部高表达, 2 个基因在雄性胸部偏向表达。研究结果为梨星毛虫性信息素相关基因功能研究奠定基础。

**关键词:** 梨星毛虫; 性信息素; 生物信息学分析; 表达分析

中图分类号: Q963

文献标识码: A

## Identification and expression pattern analysis of the sex pheromone synthase genes in *Illiberis pruni*

HE Qi-Yue<sup>1</sup>, NAN Yan-Bin<sup>1</sup>, LAI You-Peng<sup>2</sup>, LIU Zhan-Ling<sup>1</sup>, ZHANG Xiao-Yun<sup>1</sup>, ZHOU Yuan-Tao<sup>1\*</sup> (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 identification and analysis of sex pheromone-related genes in *Illiberis pruni* provided a theoretical basis for exploring the molecular mechanisms of sex pheromone synthesis. Based on transcriptome data from the abdomen and female wings of *I. pruni*, sex pheromone-related genes were screened and identified followed by bioinformatics analysis. Real-time fluorescence quantitative PCR was used to analyze the expression patterns of these genes in different tissues of male and female adults. A total of 21 sex pheromone-related genes were identified (3 *Dess*, 2 *FARs*, 1 *FAS*, 10 *ACTs*, 3 *ACCs* and 2 *ARs*), and bioinformatics analysis

基金项目: 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: 何启玥, 女, 硕士研究生, 研究方向为昆虫化学生态学, E-mail: 1805259969@qq.com

\*通讯作者 Author for correspondence: 周渊涛, 女, 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: 2024-04-12; 修回日期 Revision received: 2024-10-22; 接受日期 Accepted: 2024-10-30

revealed that these genes had significant variation in protein molecular weight, suggesting that they were unstable proteins. Subcellular localization analysis showed that the corresponding proteins were mainly located in the cytoplasm and mitochondria. Based on the phylogenetic tree results, it was inferred that the *ACCs* genes and *ACTs* genes of *I. pruni* were closely related to the sex pheromone-related genes of *Streltziella insularis* and *Danaus plexippus*. RT-qPCR analysis demonstrated that 16 genes exhibited female-biased expression in the wings, 7 genes were highly expressed in the female abdomen, and 2 genes showed male-biased expression in the male thorax. These research findings provided a foundation for the functional study of sex pheromone-related genes in *I. pruni*.

**Key words:** *Illiberis pruni*; sex pheromone; bioinformatics analysis; expression analysis

昆虫的许多重要生命活动都受到信息素的调控,其中性信息素在昆虫两性通讯中起着至关重要的作用,在害虫综合治理中被用作监测和诱捕工具(Mencil, 1991; Ando *et al.*, 2004; Witzgall *et al.*, 2010)。鳞翅目昆虫的性信息素主要是从雌蛾第8和第9腹节之间的性信息素腺体(PG)合成和释放,具有物种特异性、结构多样性和功能复杂性的特点。也有研究发现蝶类雄虫释放信息素的器官主要位于翅上,包括前翅和后翅(Tillman *et al.*, 1999; Raina *et al.*, 2000)。蛾类性信息素成分大多数具有醛、醇、酯和酮官能团,具有长碳链(C<sub>10-18</sub>)且含有一个或多个碳碳双键(Jurenka, 2004; Luo *et al.*, 2014)。迄今为止,已鉴定出1600多种雌蛾的性信息素成分,昆虫性信息素的生物合成主要通过一系列底物修饰反应完成,包括碳链缩短或延长、去饱和化、还原、氧化、乙酰化、芳构化、脱羧和水解等过程(Hagstrom *et al.*, 2014)。脂肪酸生物合成途径是鳞翅目昆虫性信息素生物合成的代表性途径。乙酰辅酶A羧化酶(Acetyl-CoA carboxylase, ACC)和脂肪酸合成酶(Fatty acid synthase, FAS)将乙酰辅酶A生成棕榈酸或硬脂酸,再通过碳链缩短或延长,形成性信息素分子碳链骨架。脱饱和化酶(Desaturase, Des)在脂肪酸的特定位置催化形成空间构型不同的双键(Z型或E型),从而生成各种信息素成分(Roelofs and Rooney, 2003; Bucek *et al.*, 2013; Ales *et al.*, 2015)。在脂肪酰基还原酶(Fatty acyl-CoA reductase, FAR)、醇氧化酶/脱氢酶(Alcohol Oxidase/Dehydrogenase, AOX)、醛还原酶(Aldehyde reductase, AR)和乙酰基转移酶(Acetyltransferase, ACT)的作用下,分别产生醇类、醛类和酯类信息素(Ando *et al.*, 2004; Jurenka, 2004; Matsumoto, 2010)。FAR能将不饱和脂肪酸前体转化为相应的醇类物质,更重要的是,不同比例的性信息素的产生是由FAR及其前体所决定的(Lassance *et al.*, 2010; Hagstrom *et al.*, 2014; Hagstrom *et al.*, 2018)。随着转录组测序技术的发展,从鳞翅目昆虫中已经鉴定出与性信息素生物合成有关的基因,例如小地老虎 *Agrotis ipsilon*、小菜蛾 *Plutella xylostella*、红斑鳞翅舞蛾 *Ctenopseustis herana*、斜纹夜蛾 *Ctenopseustis obliquana*、绿头扁卷蛾 *Planotortrix excessana*、八条尺蠖 *Planotortrix octo* 和小线角木蠹蛾 *Streltziella insularis* 等(Gu *et al.*, 2013; Grapputo *et al.*, 2018; Yang *et al.*, 2020)。

梨星毛虫 *Illiberis pruni* 属于鳞翅目斑蛾科，是梨树、苹果、海棠、沙果等果树的主要食叶类害虫，幼虫主要通过钻蛀梨芽、花蕾和啃食叶片对植物造成损害，广泛分布于我国各梨产区，特别是经营管理比较粗放的梨园（闫文涛等，2022）。为害严重时，导致果树叶片提前大面积脱落，严重影响梨树的营养状态，使花芽发育受阻，叶片大面积脱落，从而使果树光合作用减弱，降低果树的树势，影响果树产量（董艳璐等，2022；杨伟民，2022）。近年来，性信息素介导的交配活动中断已被用于有效管理经济害虫，如二化螟 *Chilo suppressalis*、稻纵卷叶蛾 *Cnaphalocrocis medinalis*、芳香木蠹蛾 *Cossus insularis* 和葡萄花翅小卷蛾 *Lobesia botrana* 等，为梨星毛虫的预防和控制提供了新思路（Hoshi *et al.*, 2016；Lucchi *et al.*, 2018；Liang *et al.*, 2020）。目前国内外关于梨星毛虫和其他斑蛾科的研究较少，且针对梨星毛虫的研究主要集中在生物学特性、生物防治以及遗传与生理学等方面，初步研究证明梨星毛虫的性信息素的化学结构为一元不饱和的十二碳稀酸丁酯类化合物（李冬梅等，1997；Subchev *et al.*, 2013；Subchev *et al.*, 2016），在雌性腹部及翅的性信息素活性最高，但梨星毛虫性信息素的生物合成和运输的分子机制仍不清楚（李冬梅等，1996，1997；董艳璐等，2022；闫文涛等，2022；杨伟民，2022）。本研究基于梨星毛虫雌雄腹部及雌性翅转录组数据，筛选出性信息素合成酶候选基因并进行生物信息学分析；通过 RT-qPCR 测定性信息素合成酶基因在雌雄成虫不同组织中的表达水平。研究结果旨在为梨星毛虫性信息素通讯的分子机制和相关基因功能研究奠定基础。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 供试昆虫及处理

实验所用梨星毛虫于 2023 年 6 月采自青海省西宁市（E101° 41'，N36° 39'），将幼虫及虫茧带回实验室饲养于养虫笼（内有新鲜梨树枝条及 3 cm 厚的土壤），养虫室内光照条件为：14 L : 10 D，温度为：23°C±1°C，相对湿度 RH 70%~80%。羽化成虫后按照性别分开存放在不同的养虫笼内。新羽化 48 h 内的健康梨星毛虫雌雄成虫分别取头（不含触角）、胸、腹、足、翅及触角作为不同组织样品，每个重复 30 头成虫，设 3 次生物学重复，采集样品并迅速用液氮进行冷冻，将其保存在-80°C冰箱中，以备后续提取 RNA，每个处理条件进行 3 次生物学重复。

### 1.2 梨星毛虫总 RNA 的提取及 cDNA 的合成

使用 Solarbio 公司 RNA 提取试剂盒(R1200)提取梨星毛虫不同组织总 RNA。使用 Nano drop 2000 核酸测定仪测定总 RNA 样本的浓度及 OD<sub>260/280</sub>。按照 Solarbio 公司的通用反转录试剂盒（M-MLV）合成梨星毛虫不同组织 cDNA 第一条链。

### 1.3 cDNA 文库构建及 Illumina 测序

基于 Illumina NovaSeq 6000 测序平台进行 2×150 bp 测序，测序实验采用 Tru Seq™ RNA Sample Preparation Kit 方法分别进行梨星毛虫的雌雄腹部及雌翅 cDNA 文库的构建。

### 1.4 转录组测序分析

对清洗后的数据进行序列组装，构建出该物种的 Unigene 库，为确保数据的可靠性，对构建好的 Unigene 库进行严格的测序文库质量评估。评估结果达标后，将进一步开展表达量分析以及基因结构分析，以深入揭示该物种的基因表达与结构特征。转录组生物信息学分析流程涵盖了因样本或处理不同所产生的基因差异表达，同时对该基因相关的功能注释水平进行分析。这些步骤都是关键且紧密相连的，对于理解基因表达调控和功能的细节提供了重要支持。这一系统化的数据分析流程将有助于深入研究基因的表达及功能，并为进一步揭示梨星毛虫性信息素生物合成的分子机制提供支持和指导。

### 1.5 梨星毛虫性信息素合成酶基因的筛选

根据鳞翅目性信息素 Type I 类型的生物合成通路，以 Acetyl-CoA carboxylase (ACC)、Acetyltransferase (ACT)、Desaturase (Des)、Aldehyde reductase (AR)、Fatty acyl-CoA reductase (FAR) 和 Fatty acid synthetase (FAS) 等为关键词，在梨星毛虫雌雄腹部及雌性翅的转录组数据库中筛选参与性信息素合成酶候选基因；通过利用 NCBI 中 BLASTP 进行序列比对；使用在线工具 Open Reading Frame (ORF) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>) 进行开放阅读框的预测。

### 1.6 梨星毛虫性信息素合成酶基因的生物信息学分析

采用 ExPASy 数据库提供的 ProtParam (<https://web.expasy.org/cgi-bin/protparam/protparam>) 工具在线预测梨星毛虫性信息素相关基因的理化性质，信号肽分析运用 SignalP 5.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>) 在线工具，蛋白亲疏水性利用 ExPASy 的 ProtScale (<https://web.expasy.org/protscale/>) 分析，亚细胞定位预测采用 WOLFP SORT (<https://wolfsort.hgc.jp>) 在线工具，二级结构预测使用 SOPMA ([https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa\\_automat.pl?page=npsa\\_sopma.html](https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html))，三级结构预测采用 ExPASy 数据库提供的 SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/interactive/GMqk3q/models/>)。

### 1.7 梨星毛虫性信息素合成酶基因系统发育分析

为明确梨星毛虫性信息素合成酶基因以及与其它鳞翅目昆虫的进化关系，构建 *LpruACCs* 和 *LpruACTs* 两类关键基因的系统发育树进行分析，包括从梨星毛虫转录组数据库中筛选鉴定出的 3 个 ACC 和 10 个 ACT 氨基酸序列，其它鳞翅目昆虫中选择了 87 个 ACC 和 137 个 ACT 氨基酸序列进行比较。通过 ClustalW 对氨基酸序列进行比对，并使用 MEGA 软件构建系统发育树，进行 1 000 次自举重复，以提高树的可靠性，最终以圆树形图的方式呈现系统发育树。利用 iTOL (iTOL: Interactive Tree Of Life ([embl.de](http://www.embl.de))) 在线网站对已构建好的系统进化树进行标记与美化。

### 1.8 引物设计与合成

利用 Oligo7 设计 RT-qPCR 引物 (表 1)，以 *RPL7* 为内参基因 (实验室内获得，未发表)，由北京睿博兴科生物技术有限公司合成。

表 1 本研究所用引物

Table 1 Primers used in the study

基因	上游引物 (5'-3')	下游引物 (5'-3')
Gene	Forward primer	Reverse primer
<i>LpruACC1</i>	CGATATGGGCCAAGGTTGTG	TGGCTAAGCACAGTCTCACA
<i>LpruACC2</i>	GCATTCGTGGTGATTTCCGA	TTGCACCCTCTCAGCGATAA
<i>LpruACC3</i>	CTTATGAGCTCCGCCACAAC	CTTCTGAAGGTTCTCGGGGT
<i>LpruACT1</i>	ACCTCTAGTCAGTCCCTCGGT	ATGGTGGTTTCGTTTGGCCA
<i>LpruACT2</i>	TTGCTTGCAAATGTGACGGA	GTTGTCGCGGGGATTATAGC
<i>LpruACT3</i>	CACACGCCAAGTTTCTGAA	AAGTATCAGTCGAGCGAGGG
<i>LpruACT4</i>	CGGCTCTCACTGACTCTTCT	TCCAGCAAGCAGACCTAGAC
<i>LpruACT5</i>	TCTCGCATCGCCAATAAACG	TGATCATGAGTGGCAACCCCT
<i>LpruACT6</i>	AGGGTCGTGGAGTGAAAGG	GATGTCGTGTTTGTGGTGCT
<i>LpruACT7</i>	GGGCATTGGGTCATGTTCTC	CATCCCTCTAGAGAAGCCCG
<i>LpruACT8</i>	CTCGTAACACATGCCCACTG	GACACCAACGCTATGCTGAG
<i>LpruACT9</i>	GACTGCTCGCACATGTCAA	ACCCGGCCGAGATAATACAG
<i>LpruACT10</i>	ACAGCAGCCTTAACAGCAAC	GGCAGCATACTCGACAAAGG
<i>LpruAR1</i>	TCCAATTTAGGTTCCGGGCT	GGTCAAGAGGAGTTGGTCTGA
<i>LpruAR2</i>	GTCATGGGCACGAATCTTCC	GTGGAGTCATCGTCATCCCA
<i>LpruDes1</i>	GCAGGTTTCGGAGTAACAGC	GTCTCGCACCCAGTCGTATA
<i>LpruDes2</i>	CGTCAATCTCAAGGCAGTCG	TTAGTGC GCGATAACAGGCTA50
<i>LpruDes3</i>	CCACCATCGTTGTTTGCTA	ACGATCCACA ACTAAGCCGA
<i>LpruFAR1</i>	GCAACGCCGAACCTATGATT	TGTGTCTCGCATGTTACCCT
<i>LpruFAR2</i>	ATTCCACTTCGCTGCATCAC	TCGAGGTTCCGCATCTTCTT
<i>LpruFAS</i>	CAGTCCAATGGTCGCTTCAG	AGAACGCTCACATTTGCCAG
<i>RPL7</i>	TGTCCAAGGTCTGAGTGA	CCAAGTATATCCGCATCCA

### 1.9 梨星毛虫性信息素合成酶基因荧光定量 PCR 分析

RT-qPCR 反应体系 (20  $\mu\text{L}$ ) 为 TB Green® Premix Ex Taq™ (Tli RNaseH Plus) 10  $\mu\text{L}$ , 正反向引物 (10  $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$ ) 各 0.8  $\mu\text{L}$ , cDNA 1  $\mu\text{L}$  (100 ng), ddH<sub>2</sub>O 7.4  $\mu\text{L}$ , 在 LongGene033-00410 上进行反应。PCR 程序: 95°C 1 min; 95°C 15 s, 退火温度 15 s, 40 个循环; 72°C 45 s。每个 cDNA 样品设置 3 次技术性重复和 3 次生物学重复。

### 1.10 数据处理及分析

通过使用  $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$  法对相关基因在梨星毛虫雌雄不同组织中的表达进行相对定量分析, 使用 SPSS Statistics 26.0 软件进行单因素方差分析 (ANOVA), 使用 Duncan 法确定显著性差异, 最后使用 Graphpad Prism 9 绘制梨星毛虫性信息素合成酶基因在雌雄不同组织中的表达情况。

## 2 结果与分析

### 2.1 转录组数据组装及基因注释

利用 Illumina 高通量转录组测序技术对梨星毛虫的雌雄腹部以及雌翅组织样本进行了转录组测序。在测序过程中, G/C 碱基的比例接近 50%, 表明测序的碱基含量上表现出相对平衡且稳定的特点 (表 2)。通过对组装的转录组数据进行生物学分析和综合描述, 共获得 54.36 Gb Clean Data, 92 161 条 Unigene 序列, 其中长度超过 1 kb 的 Unigene 共有 21 244 条, 显示出较高的组装质量。通过深入分析 Transcript 和 Unigene 序列发现两者的 N50 值均较长,

验证了转录组序列组装的质量优良, 确保了研究的可靠性和准确性。在 Unigene 中没有长度小于 200 bp 的序列, 这进一步体现了数据的高质量, 长度在 200~500 bp 之间的 Unigene 数量最多, 共有 42 674 条, 占比高达 46.30%, 长度超过 2 000 bp 的 Unigene 有 8 441 条, Unigene 的长度分布显示梨星毛虫的转录组测序质量和深度较高 (表 3); 同源基因聚类分析 (COG) 表明 25 个已知的生物学功能共注释了有 9 797 个序列; 15 736 (49.17%) 条 Unigenes 成功注释到不同的 GO 分类中; 分析 KEGG 通路共分为 6 大类和 26 个亚类。

表 2 梨星毛虫雌雄腹部及雌翅转录组测序结果

Table 2 Transcriptome sequencing results of the abdomen and wings of female and male *Illiberis pruni*

样品名称 Sample name	总碱基数 BaseSum	GC (%)	N (%)	Q20 (%)	CycleQ20 (%)	Q30 (%)
FB1	7 273 509 900	38.51	0	96.03	100	90.01
FB2	6 168 668 100	40.11	0	96.85	100	91.63
FB3	7 385 262 600	36.98	0	95.86	100	89.79
FW1	6 354 292 200	40.49	0	95.96	100	90
FW2	5 917 197 900	39.66	0	95.73	100	89.88
FW3	6 219 584 600	38.79	0	95.24	100	89.62
MB1	7 365 475 200	37.88	0	96.05	100	90.4
MB2	6 696 348 000	37.19	0	95.68	100	89.56
MB3	7 199 094 600	37.55	0	95.91	100	89.96

注: FB1~3 表示梨星毛虫雌性腹部转录组的 3 个生物学重复; FW1~3 表示梨星毛虫雌性翅转录组的 3 个生物学重复; MB1~3 表示梨星毛虫雄性腹部转录组的 3 个生物学重复。Note: FB1~3 represented 3 biological replicates of female abdominal transcriptome of *Illiberis pruni*; FW1~3 represented 3 biological replicates of female wing transcriptome of *Illiberis pruni*; MB1~3 represented 3 biological replicates of male abdominal transcriptome of *Illiberis pruni*.

表 3 测序数据统计表

Table 3 Sequencing data statistics table

长度范围 (bp) Length range	转录本 Transcripts	基因数据库 Unigenes
300~500	61 217 (33.36%)	42 674 (46.30%)
500~1 000	56 309 (30.69%)	28 243 (30.65%)
1 000~2 000	37 561 (20.47%)	12 803 (13.89%)
2 000+	28 404 (15.48%)	8 441 (9.16%)

## 2.2 梨星毛虫性信息素合成酶基因的鉴定

基于梨星毛虫雌雄腹部及雌性翅转录组数据库，共筛选和鉴定出 21 个参与性信息素合成酶基因，包括 3 个 *ACCs*、1 个 *FAS*、3 个 *Dess*、2 个 *FARs*、10 个 *ACTs* 和 2 个 *ARs* 基因。将梨星毛虫性信息素相关基因与其它鳞翅目昆虫性信息素基因序列相似性进行比较，其中 *LpruACT9* 与大红斑蝶 *Danaus plexippus* 相似度最高，为 95.93%，其次，*LpruACC3* 与菜粉蝶 *Pieris rapae* 基因序列的相似度为 92.06%。所筛选出的梨星毛虫性信息素相关基因与其它鳞翅目昆虫相似性均高于 60%（表 4）。

表 4 梨星毛虫性信息素生物合成相关基因的 BLASTP 验证

Table 4 BLASTP matching of genes related to the biosynthesis of sex pheromone in *Illiberis pruni*

基因名称	开放阅读框 (aa)	序列长度 (bp)	E 值	相似度 (%)	物种
Gene name	Open reading frame	Length	E-value	Identity	Species
<i>ACC1</i>	345	1 038	0	91.10	棉红铃虫 <i>Pectinophora gossypiella</i>
<i>ACC2</i>	543	1 632	0	86.33	海波斯莫科马属蛾 <i>Hyposmocoma kahamanao</i>
<i>ACC3</i>	314	945	0	92.06	菜粉蝶 <i>Pieris rapae</i>
<i>FAS</i>	495	1 488	0	74.44	棉红铃虫 <i>Pectinophora gossypiella</i>
<i>FAR1</i>	510	1 533	0	73.73	棉红铃虫 <i>Pectinophora gossypiella</i>
<i>FAR2</i>	519	1 560	0	78.81	甜菜夜蛾 <i>Spodoptera exigua</i>
<i>ACT1</i>	570	1 713	0	83.42	大豆食心虫 <i>Leguminivora glycinivorella</i>
<i>ACT2</i>	464	1 395	0	75.65	大蜡螟 <i>Galleria mellonella</i>
<i>ACT3</i>	405	1 218	0	79.26	棉铃虫 <i>Helicoverpa armigera</i>
<i>ACT4</i>	393	1 182	0	82.74	大豆食心虫 <i>Leguminivora glycinivorella</i>
<i>ACT5</i>	325	978	0	77.30	孔雀蛱蝶 <i>Aglais io</i>
<i>ACT6</i>	309	930	3e <sup>-179</sup>	77.99	苹果蠹蛾 <i>Cydia pomonella</i>
<i>ACT7</i>	396	1 191	0	80.56	甜菜夜蛾 <i>Spodoptera exigua</i>
<i>ACT8</i>	342	1 029	0	89.15	烟草天蛾 <i>Manduca sexta</i>
<i>ACT9</i>	441	1 326	0	95.93	黑脉金斑蝶 <i>Danaus plexippus</i>
<i>ACT10</i>	491	1 476	0	89.05	曼珍眼蝶 <i>Maniola jurtina</i>
<i>Des1</i>	371	1 116	4e <sup>-171</sup>	69.49	印度谷螟 <i>Plodia interpunctella</i>
<i>Des2</i>	366	1 101	0	72.83	小线角木蠹蛾 <i>Holcocerus insularis</i>
<i>Des3</i>	332	999	0	83.59	红铃虫 <i>Pectinophora gossypiella</i>
<i>AR1</i>	343	1 032	2e <sup>-180</sup>	69.68	亚洲玉米螟 <i>Ostrinia furnacalis</i>
<i>AR2</i>	318	957	0	80.19	小粉蝶 <i>Leptidea sinapis</i>

## 2.3 梨星毛虫性信息素合成酶基因的生物信息学分析

### 2.3.1 理化性质分析

由理化性质分析结果可知（表 5），梨星毛虫性信息素合成酶基因相对分子量在 33.51~63.52 kD 之间，*LpruACC3* 氨基酸数目最少（315 aa），*LpruACT1* 氨基酸数目最多（571 aa），平均氨基酸长度为 409 aa；*LpruACT1-3*、*LpruFAS*、*LpruACT3*、*LpruACT9*、*LpruAR1-2* 的理论等电点均小于 7，其余均大于 7，平均 PI 为 7.54，说明梨星毛虫性信息素合成酶基因大多为碱性蛋白；*LpruACT7* 的不稳定指数最小，值为 24.62，*LpruACT1* 不稳定指数最高，为 57.98，有 5 个梨星毛虫性信息素合成酶基因的不稳定指数大于 40，其余的不稳定指数均小于 40，说明梨星毛虫性信息素合成酶基因大多为稳定蛋白（稳定指数大于 40 为稳定蛋白）；梨星毛虫性信息素合成酶基因脂肪系数在 69.56~115.28，*LpruACT1* 最小，*LpruACT6* 最高；

脂肪系数计算球状蛋白脂肪族氨基酸侧链所占相对体积，反映了蛋白质的热稳定性，梨星毛虫性信息素合成酶基因总体的脂肪系数值的大小处于中等，推测梨星毛虫性信息素合成酶基因热稳定性一般；LpruACT9 的亲疏水性总平均值最小，LpruACT6 最高，平均亲疏水性为 -0.69~0.60，正值表示疏水，负值表示亲水，说明梨星毛虫性信息素合成酶基因亲水性高；信号肽预测结果显示梨星毛虫性信息素合成酶基因都不含有信号肽；对梨星毛虫性信息素合成酶基因进行亚细胞定位预测，预测结果表明大部分梨星毛虫性信息素合成酶基因位于细胞质和线粒体中，LpruACC2、LpruFAR1 和 LpruACT6 位于到质膜上，LpruACT1 和 LpruACT2 定位到细胞核上，LpruACC1 和 LpruDes2 位于细胞骨架。

表 5 梨星毛虫性信息素合成酶基因理化性质

Table 5 Physicochemical properties of genes related to sexual pheromones in *Illiberis pruni*

基因 Gene	氨基酸残 基数 (aa) Amino acids	相对分子 量 (kD) Molecular weight	等电点 (PI) Isoelectric point	不稳定 系数 Instabilit y index	脂肪系数 Aliphatic index	总平均 疏水性 Average hydropat hicity	信号肽 Signal peptide	亚细胞定位 Subcellular localization
LpruACC1	345	39.23	5.35	46.48	83.25	-0.31	无 None	细胞骨架 Cytoskeleton
LpruACC2	544	60.61	5.2	33.79	87.46	-0.26	无 None	质膜 Plasma membrane
LpruACC3	315	36.00	5.89	38.78	91.08	-0.33	无 None	线粒体 Mitochondrion
LpruFAS	495	54.61	5.21	43.82	101.84	-0.06	无 None	细胞质 Cytoplasm
LpruFAR1	510	58.16	8.99	37.55	107.78	0.08	无 None	质膜 Plasma membrane
LpruFAR2	519	59.62	8.71	36.95	102.5	-0.04	无 None	线粒体 Mitochondrion
LpruACT1	571	63.52	9.44	57.98	69.56	-0.61	无 None	细胞核 Nucleus
LpruACT2	464	52.09	7.92	38.35	81.21	-0.43	无 None	细胞核 Nucleus
LpruACT3	405	46.76	5.98	39.77	79.46	-0.48	无 None	细胞质 Cytoplasm
LpruACT4	393	44.44	7.53	50.62	82.9	-0.22	无 None	线粒体 Mitochondrion
LpruACT5	326	37.38	7.20	33.3	85.92	-0.28	无 None	细胞质 Cytoplasm
LpruACT6	309	33.51	9.04	37.11	115.28	0.60	无 None	质膜 Plasma membrane
LpruACT7	396	41.43	8.99	24.62	94.37	0.11	无 None	线粒体 Mitochondrion
LpruACT8	342	38.32	7.66	35.46	74.85	-0.36	无 None	线粒体 Mitochondrion
LpruACT9	441	51.43	6.79	41.69	76.51	-0.69	无 None	细胞质 Cytoplasm
LpruACT10	491	52.89	8.18	35.88	96.15	0.01	无 None	线粒体 Mitochondrion
LpruDes1	371	43.44	9.35	37.74	86.71	-0.08	无 None	细胞质 Cytoplasm
LpruDes2	366	42.27	9.34	31.89	96.94	-0.02	无 None	细胞骨架 Cytoskeleton
LpruDes3	332	38.83	8.94	32.34	88.19	-0.07	无 None	细胞质 Cytoplasm
LpruAR1	343	39.14	6.46	31.99	92.3	-0.29	无 None	细胞质 Cytoplasm
LpruAR2	318	36.23	6.21	26.73	87.33	-0.39	无 None	细胞质 Cytoplasm

### 2.3.2 二级、三级结构分析

根据运用 SOPMA 在线软件进行蛋白二级结构进行预测，结果显示（图 1，表 6），21 个编码的蛋白质二级结构均由 $\alpha$ -螺旋、 $\beta$ -折叠、无规则卷曲结构和延伸链组成，但不同结构的比例有所差异。在所有蛋白质中，大部分蛋白质的 $\alpha$ -螺旋高于其它结构，除 LpruACC1、LpruACC2、LpruACT1、LpruACT4、LpruACT9、LpruAR1 和 LpruAR2 外，其余 $\alpha$ -螺旋结构比例均超过 40%。无规则卷曲结构的比例介于 28.72%~44.48%之间，平均为 36.79%，而



$\beta$ -折叠结构在 4 种结构中占比最低，其中 LpruACC3 为最低，仅占总结构的 1.27%，而 LpruACC10 的 $\beta$ -折叠结构比例最高，为 9.37%。延伸链的比例在不同蛋白质中有所变化，介于 3.81%~23.53%之间。综合分析发现，梨星毛虫性信息素合成酶基因结构中， $\alpha$ -螺旋结构和无规则卷曲结构是的主要构成元素。进一步预测梨星毛虫性信息素合成酶基因的蛋白质的三级结构也表明， $\alpha$ -螺旋结构仍然是主要的组成结构（图 2）。

表 6 性信息素合成酶基因的二级结构

Table 6 Secondary structure of sex pheromone genes in *Illiberis pruni*

基因 Gene	$\alpha$ -螺旋 (%) Alpha helix	$\beta$ -折叠 (%) Beta turn	无规则卷曲 (%) Random coil	延伸连 (%) Extended strand
<i>LpruACC1</i>	32.75	7.54	36.23	23.48
<i>LpruACC2</i>	32.90	7.54	36.03	23.53
<i>LpruACC3</i>	62.22	1.27	32.7	3.81
<i>LpruFAS</i>	46.67	3.43	37.58	12.32
<i>LpruFAR1</i>	47.25	4.31	30.98	17.45
<i>LpruFAR2</i>	48.36	3.08	33.33	15.22
<i>LpruACT1</i>	35.55	5.25	44.48	14.71
<i>LpruACT2</i>	41.81	5.6	38.36	14.22
<i>LpruACT3</i>	45.43	2.22	36.54	15.8
<i>LpruACT4</i>	37.66	7.63	38.17	16.54
<i>LpruACT5</i>	43.87	4.91	34.97	16.26
<i>LpruACT6</i>	45.63	5.5	32.69	16.18
<i>LpruACT7</i>	41.92	8.33	33.59	16.16
<i>LpruACT8</i>	44.15	6.14	36.26	13.45
<i>LpruACT9</i>	36.28	5.44	40.82	17.46
<i>LpruACT10</i>	45.01	9.37	28.72	16.9
<i>LpruDes1</i>	40.7	5.12	39.08	15.09
<i>LpruDes2</i>	43.99	3.55	40.71	11.75
<i>LpruDes3</i>	45.78	5.42	35.84	12.95
<i>LpruAR1</i>	34.11	7.00	43.73	15.16
<i>LpruAR2</i>	33.96	5.66	41.82	18.55

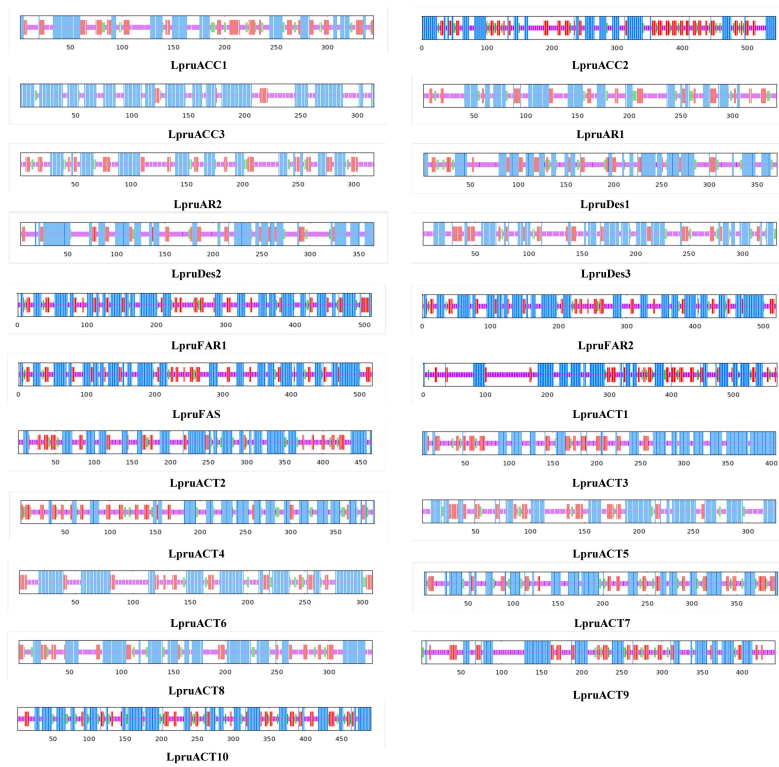


图 1 梨星毛虫性信息素合成酶基因的二级结构

Fig. 1 Secondary structure of sex pheromone genes in *Illiberis pruni*

注：蓝线为 $\alpha$ -螺旋；绿线为 $\beta$ -折叠；红线为延伸连；紫线为无规则卷曲。Note: Blue line was Alpha helix, green line was Beta turn, red line was Extended strand, purple line was Random coil.

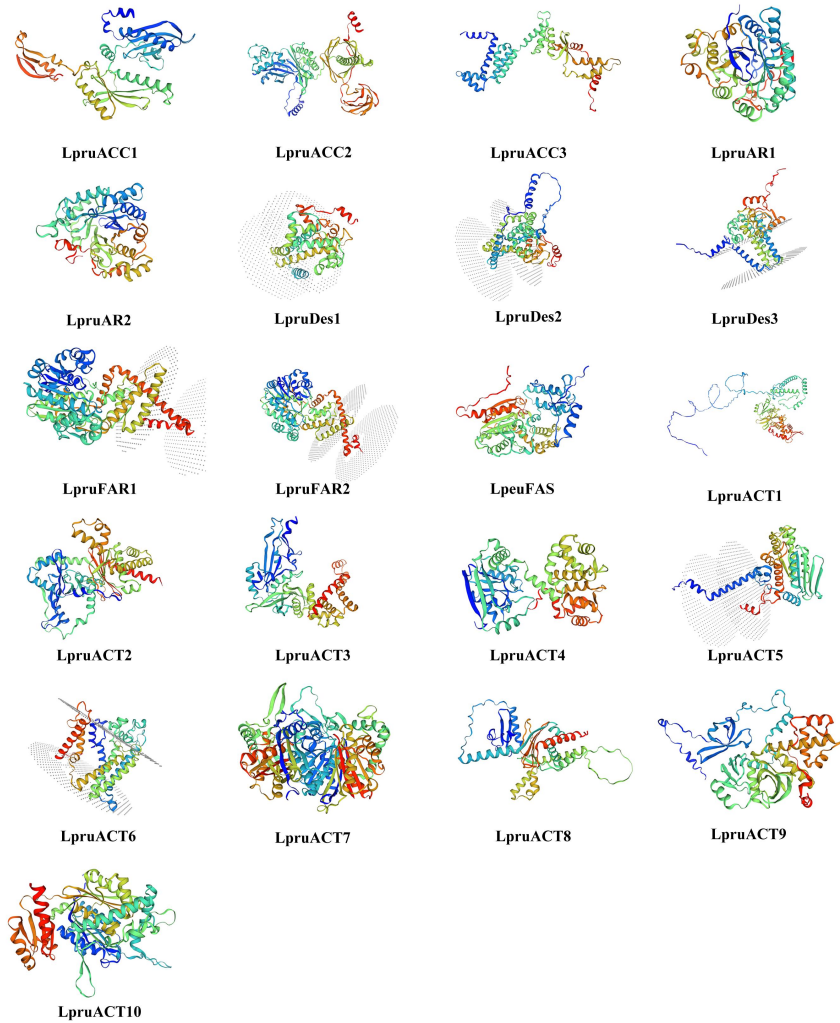


图 2 梨星毛虫性信息素合成酶基因的三级结构预测图

Fig. 2 Prediction map of sex pheromone genes stertary structure in *Illiberis pruni*

#### 2.4 梨星毛虫性信息素合成酶基因系统进化分析

为明确梨星毛虫 *ACCs* 和 *ACTs* 基因与其它近源物种的进化关系，利用 *LpruACCs* 和 *LpruACTs* 和其它鳞翅目昆虫的 *ACC* 和 *ACT* 氨基酸序列分别构建系统发育树。结果显示 *LpruACCs* 和 *LpruACTs* 在整个进化系统中分布较分散，但所有的 *LpruACCs* 和 *LpruACTs* 与鳞翅目昆虫的 *ACCs* 和 *ACTs* 序列聚集在一起（图 3、图 4）。具体而言，在 *ACC* 系统发育树中，*LpruACC1* 与 *PaegACC2*、*SinsACC1*、*SinsACC2* 聚在同一进化枝，*LpruACC2* 与 *MsexACC4*、*MsexACCX4* 聚在同一进化枝，*LpruACC3* 与 *BanyACC1*、*MjurACC1*、*MhypACC1*、*PgosACCX2*、*PgosACCX1*、*PgosACC1*、*PgosACC2* 聚集在同一小分支（图 3）。

在 *ACT* 系统发育树中，*LpruACT1* 和 *LpruACT9* 与 *HzeaACTX3*、*SfruACT*、*TniACT*、*PgosACTX3*、*PpolACT2*、*DpelACT* 等聚在同一进化枝，且 *LpruACT9* 与 *DpelACT* 在同一小组，置信值为 95，*LpruACT2* 与 *MsexACT5*、*BorACTX6*、*BamACT* 等聚在同一进化枝，*LpruACT3* 与 *PgosACT8*、*PopeACT* 聚集在同一进化枝，*LpruACT5* 与 *McinACT4*、*VataACT4*、*NioACT4* 聚在同一进化枝，*LpruACT7* 与 *SexiACT*、*OscACT* 聚到同一小分支上（图 4），

因此推测梨星毛虫 ACCs 基因和 ACTs 基因与小线角木蠹蛾和黑脉金斑蝶 *Danaus plexippus* 性信息素相关基因的亲缘关系较近。

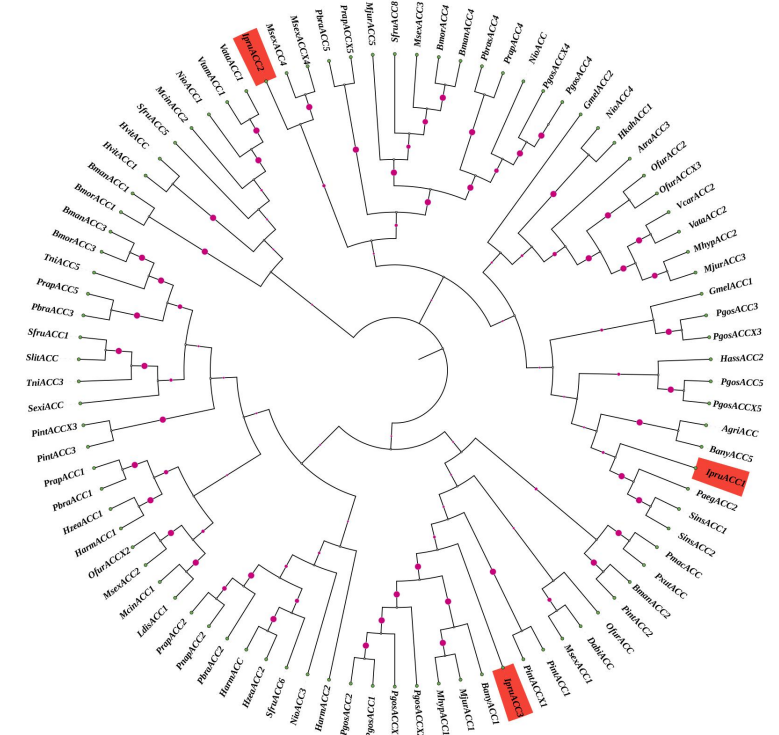


图 3 LpruACCs 与其它鳞翅目昆虫 ACCs 的系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree of LpruACCs with those from other Lepidoptera insects

注: LpruACC1~3, 梨星毛虫 ACC1~3; Vtam, 夏威夷红蛱蝶 *Vanessa tameamea*; Vcar, 小红蛱蝶 *Vanessa cardui*; Vata, 优红蛱蝶 *Vanessa atalanta*; Tni, 粉纹夜蛾 *Trichoplusia ni*; Sins, 小线角木蠹蛾 *Streltziella insularis*; Slit, 斜纹夜蛾 *Spodoptera litura*; Sfru, 草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda*; Sexi, 甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua*; Pint, 印度谷螟 *Plodia interpunctella*; Prap, 菜粉蝶 *Pieris rapae*; Pnap, 暗脉菜粉蝶 *Pieris napi*; Pbra, 大菜粉蝶 *Pieris brassicae*; Pgos, 棉铃红铃虫 *Pectinophora gossypiella*; Pxut, 柑橘凤蝶 *Papilio xuthus*; Pmac, 燕尾凤蝶 *Papilio machaon*; Ofur, 亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis*; Nio, 孔雀蝶 *Nymphalis io*; Mcin, 麦诺斑粉蝶 *Melitaea cinxia*; Msex, 烟草天蛾 *Manduca sexta*; Ldis, 舞毒蛾 *Lymantria dispar*; Hkah, 海波斯莫科马属蛾 *Hyposmocoma kahamanao*; Hvit, 黄野螟 *Heortia vitessoides*; Hzea, 棉铃虫 *Helicoverpa zea*; Hass, 烟夜蛾 *Helicoverpa assulta*; Gmel, 大蜡螟 *Galleria mellonella*; Dabi, 冷杉梢斑螟 *Dioryctria abietella*; Bmor, 家蚕 *Bombyx mori*; Bman, 野桑蚕 *Bombyx mandarina*; Bany, 普眉线蛱蝶 *Bicyclus anynana*; Atra, 脐橙螟蛾 *Amyelois transitella*; Agri, 小蜡螟 *Achroia grisella*; Mjur, 曼珍眼蝶 *Maniola jurtina*。

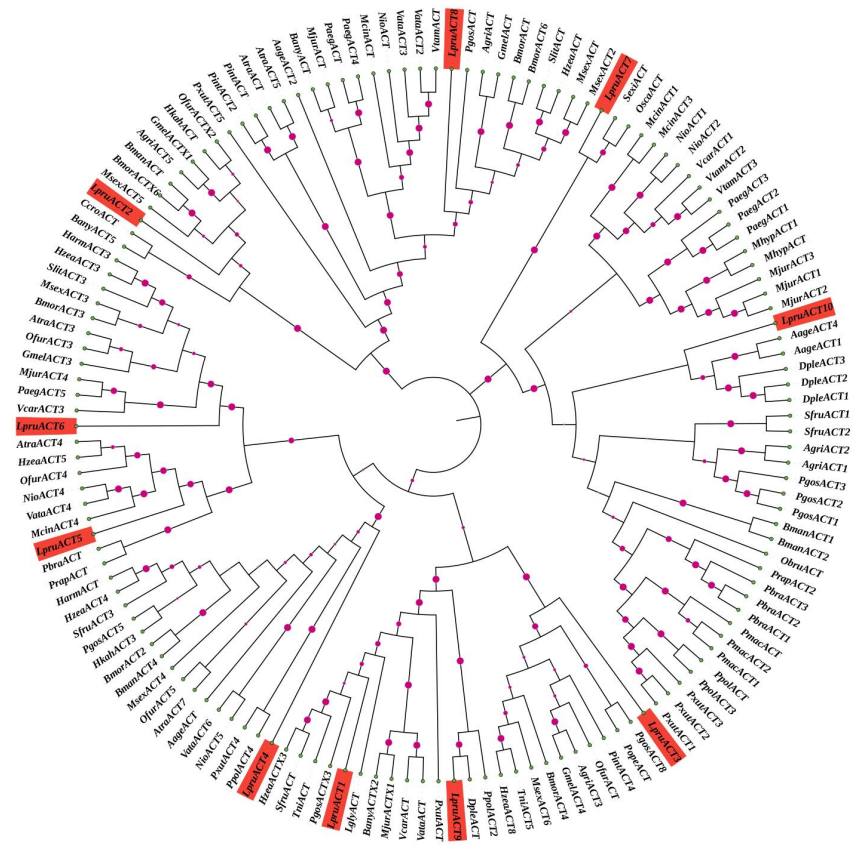


图4 LpruACTs与其它鳞翅目昆虫 ACTs 的系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic tree of LpruACTs with those from other Lepidoptera insects

注: LpruACT1~10, 梨星毛虫 ACT1~10; Lgly, 大豆食心虫 *Leguminivora glycinivorella*; Agri, 小蜡螟 *Achroia grisella*; Atra, 脐橙螟蛾 *Amyelois transitella*; Aage, 阿线灰蝶 *Aricia agestis*; Bany, 普眉线蛱蝶 *Bicyclus anynana*; Bman, 野桑蚕 *Bombyx mandarina*; Bmor, 桑蚕 *Bombyx mori*; Ccro, 红点豆粉蝶 *Colias croceus*; Dple, 黑脉金斑蝶 *Danaus plexippus*; Gmel, 大蜡螟 *Galleria mellonella*; Harm, 棉铃虫 *Helicoverpa armigera*; Hkah, 海波斯莫科马属蛾 *Hypsmocoma kahamanao*; Msex, 烟草天蛾 *Manduca sexta*; Mjur, 曼妮粉蝶 *Maniola jurtina*; Mcin, 庆网蛱蝶 *Melitaea cinxia*; Nio, 孔雀蝶 *Nymphalis io*; Obru, 菩尺蛾 *Operophtera brumata*; Ofru, 亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis*; Pmac, 燕尾凤蝶 *Papilio machaon*; Ppol, 玉带凤蝶 *Papilio polytes*; Pxut, 柑橘凤蝶 *Papilio xuthus*; Page, 伊猊弄蝶 *Pararge aegeria*; Pgos, 棉红铃虫 *Pectinophora gossypiella*; Pbra, 大菜粉蝶 *Pieris brassicae*; Prap 菜粉蝶 *Pieris rapae*; Pint, 印度谷螟 *Plodia interpunctella*; Sexi, 甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua*; Sfru, 草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda*; Slit, 斜纹夜蛾 *Spodoptera litura*; Tni, 粉纹夜蛾 *Trichoplusia ni*; Vata, 优红蛱蝶 *Vanessa atalanta*; Vcad, 小红蛱蝶 *Vanessa cardui*; Vtam, 夏威夷红蛱蝶 *Vanessa tameamea*.

## 2.5 梨星毛虫性信息素合成酶基因的表达谱分析

通过 RT-qPCR 测定 21 个性信息素合成酶基因在梨星毛虫雌雄不同组织中的相对表达量差异情况, 以雌虫头部作为阳性对照, 结果如下。

*LpruACCI*~3 基因在雌雄各个组织中均有表达, 并且呈现不同的表达水平: *LpruACCI* 和 *LpruACC3* 在雌性翅的表达量显著高于雄性翅, 表达倍数分别为 692 倍和 5.8 倍, *LpruACCI* 在雄性腹部的表达量为雌性的 612 倍, *LpruACC2* 在雄性胸部的相对表达量显著高于雌性(图

5-a~c) ; *LpruAR1* 在雌性胸部的相对表达量显著高于雄性胸部, 而 *LpruAR2* 在雄性胸部的表达量高于雌性, *LpruAR2* 在雌性腹部的表达量显著高于雄性腹部, *LpruAR1~2* 在雌性翅的表达量均高于雄性翅, *LpruAR1~2* 在其它组织中微量表达且无明显差异 (图 5-d~e) ; *LpruDes1~3* 在雌性腹部和翅的表达呈现雌性偏好表达模式 ( $P<0.05$ ), 而 *LpruDes1* 在雄性胸部的表达量略高于高于雌性性, *LpruDes1~3* 在其它组织中微量表达且无明显差异 (图 5-f~h); *LpruFAR1~2* 在雌性腹部及翅的表达均高于雄性, 且呈现雌性偏好表达模式 ( $P<0.05$ ), *LpruFAR1~2* 在其它组织内微量表达且无明显差异 (图 5-i~j) ; *LpruFAS* 在雌性腹部的表达量为雄性表达量的 107 倍, 呈现雌性偏好表达模式 ( $P<0.05$ ), 在其它组织内无明显差异 (图 5-k) ; *LpruACT1*、3、4、5、9 在雌性腹部及翅的表达量均显著高于雄性, *LpruACT6*、7、10 仅在雌性翅的表达量高于雄性, 而 *LpruACT2* 雄性腹部的表达量显著高于雌性, 在雌性翅的表达量显著高于雄性, *LpruACTs* 在其它组织中均微量表达且无显著差异 (图 5-l~u) 。

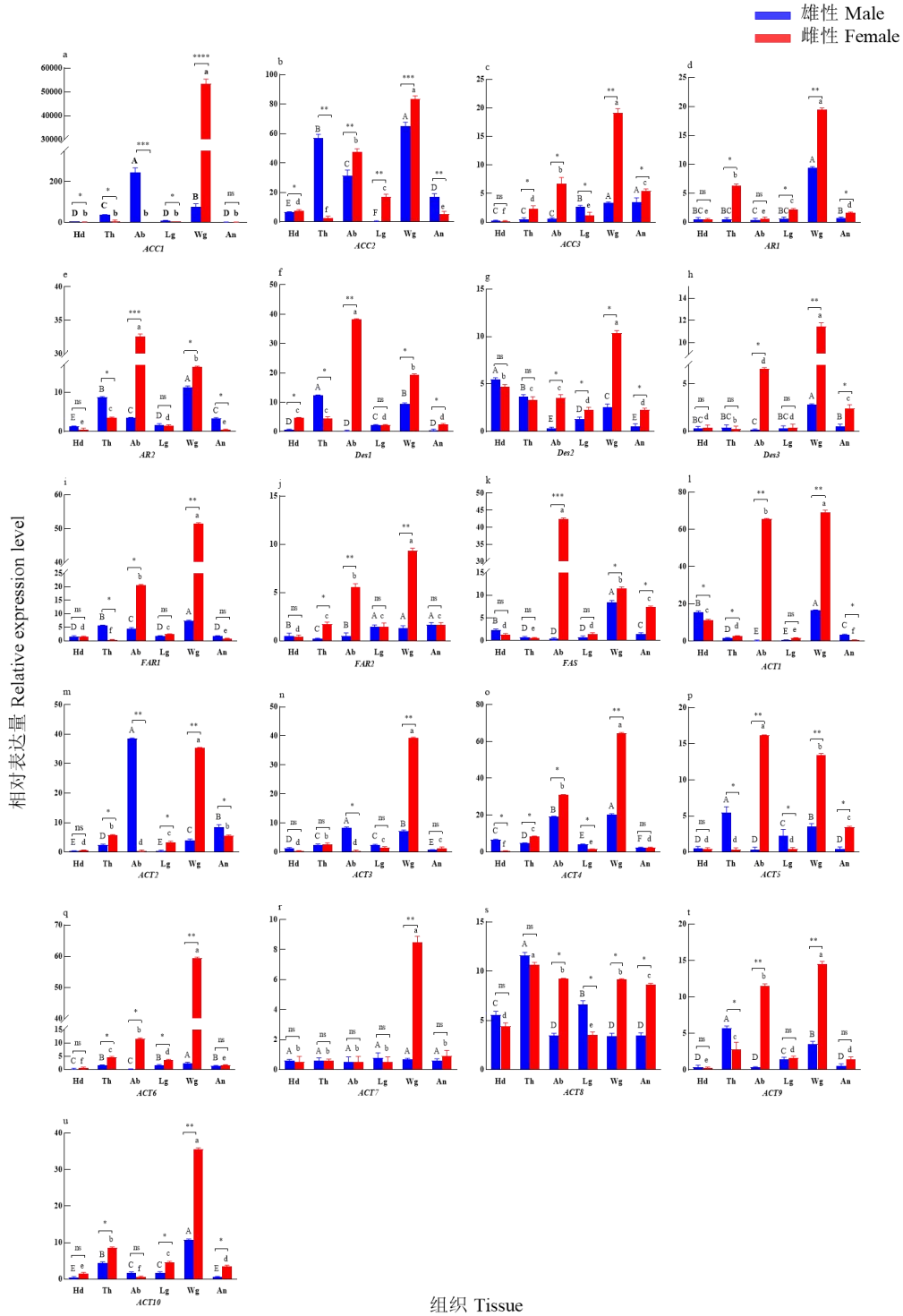


图5 梨星毛虫性信息素合成酶基因在雌雄成虫不同组织表达谱分析

Fig. 5 The tissue expression profile of sex pheromone genes in male and female adults of *Illiberis pruni*

注: Hd, 头; Th, 胸; Ab, 腹; Lg, 足; Wg, 翅; An, 触角。误差线表示3次独立实验的标准误, 不同大小写字母表示雌雄不同组织之间的显著性差异 (Duncan:  $P < 0.05$ )。星号表示目的基因在同一组织的相对表达量雌雄间差异显著 (t 检验, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ )。Note: Hd, Head; Th, Thorax; Ab, Abdomen; Lg, Legs; Wg, Wings; An, Antennae. Error lines represent the standard error of three independent trials, different uppercase letters indicated a significant difference between tissues of male and female (Duncan:  $P < 0.05$ ).

Asterisk indicate a significant or very significant difference of the relative expression of the target gene in the same tissue (t-test,\*  $P<0.05$ , \*\*  $P<0.01$ , \*\*\*  $P<0.001$ )

### 3 结论与讨论

目前, 通过 RNA-Seq 技术已经对性信息素合成酶基因的表达进行了大量的研究, 然而关于昆虫性信息素的合成、结合、运输和释放的相关研究仍然较少 (Gu *et al.*, 2013; Chen *et al.*, 2017; Grapputo *et al.*, 2018; Yang *et al.*, 2020)。本研究通过梨星毛虫雌雄腹部及雌翅转录组数据库共筛选和鉴定出 21 个性信息素合成酶基因。

*FAR* 基因在家蚕 *Bombyx mori* 的研究中首次发现 (Moto *et al.*, 2003)。在秆野螟属中, *FAR* 微小的变化将导致信息素成分比例的急剧变化 (Lassance *et al.*, 2010; Lassance *et al.*, 2013)。此外, 在小卷蛾和夜蛾中也观察到 *FARs* 产生多组分信息素的特异性 (Lienard and Lofsted, 2010; Hagstrom *et al.*, 2018)。尽管 *FARs* 基因普遍存在, 但有研究表明其在雌性性腺中表达, 在其它雌性组织中不表达 (Carot-Sana *et al.*, 2015)。本研究中, *LpruFARs* 基因在雌性腹部及翅中偏向表达, 且已有研究表明梨星毛虫性信息素主要合成部位为雌性腹部及雌翅 (李冬梅等, 1996), 推测 *FAR* 基因可能在梨星毛虫生殖发育过程中起到重要作用, *LpruFARs* 会将生成的特定不饱和脂肪酸前体转化为相应的醇, 这些前体是不饱和脂肪酸不可或缺的组成部分 (Moto *et al.*, 2003; Hagstrom *et al.*, 2018)。已有研究证明 *Des* 进化出的多种酶在鳞翅目性信息素生物合成中起关键作用, 其表达模式和生物学作用塑造了性信息素成分结构的多样性 (Hao *et al.*, 2002; Knipple *et al.*, 2002; Liu *et al.*, 2004; Lienard and Lofsted, 2010; Wang *et al.*, 2010)。本研究中共筛选与鉴定出 3 个 *LpruDes* 基因, 与小地老虎 (5 个 *Dess*) 数量相似, 均在雌性翅或雌性腹部特异性表达 (Gu *et al.*, 2013)。已有研究证明梨星毛虫的性信息素成分为十二碳烯酸酯或十四碳烯酸酯 (李冬梅等, 1997; Subchev *et al.*, 2013; Subchev *et al.*, 2016), 根据关于几种蛾类含有  $\Delta 11$ -或  $\Delta 9$ -性信息素生物合成途径的研究表明, 该途径涉及  $\Delta 11$  或  $\Delta 9$  去饱和步骤, 分别由  $\Delta 11$  或  $\Delta 9$  去饱和酶催化 (Wu *et al.*, 1998; Liu *et al.*, 2002; Hao *et al.*, 2004; Fujii T *et al.*, 2011), 因此推测, *LpruDes* 基因可能会影响梨星毛虫性信息素的合成, 在性信息素的生物合成途径可能涉及去饱和步骤, 其中饱和脂肪酸 (C16) 通过去饱和步骤转化为不饱和脂肪酸, 并在碳链的第 7 或第 9 位引入双键。为验证这一假设, 需要进行更深入的研究。

通过梨星毛虫雌雄腹部及雌翅的转录组数据库, 共筛选和鉴定出 3 个 *LpruACC* 基因, 数量多于小地老虎 (2 个 *ACCs*)、小菜蛾 (1 个 *ACC*) 和黄地老虎 *Agrotis segetum* (1 个 *ACC*) 等其它已报道的鳞翅目昆虫, *LpruACCI~2* 分别在雄性胸部及腹部显著表达, *LpruACCs* 均在雌翅中偏向表达 (Gu *et al.*, 2013; Ding and Lofstedt, 2015; Zhu *et al.*, 2021)。脂肪酸生物合成中的限速步骤是由 ATP 依赖的 *ACC* 催化的乙酰辅酶 A 羧化为丙酰缩酶 A 的反应, 是饱和长链脂肪酸合成的第一步, *ACC* 具有多种催化活性的蛋白质, 协调并提供丙酰缩酶 A 底物来合成脂肪酸 (Ding and Lofstedt, 2015)。推测 *ACC* 基因作为性信息素生物合



成通路中的关键限速酶，可能参与了梨星毛虫性信息的生物合成以及释放的过程。Eliyahu 等人的研究结果证明，草甘膦可以抑制棉铃虫 *Helicoverpa armigera* PBAN 激活性信息素的合成，表明 ACCs 在调节脂肪酸合成中发挥了重要作用，并且还提供了一种防治害虫的新思路。具体而言，作为调节脂肪酸代谢的关键靶标基因，ACCs 可以被用于干扰昆虫性信息素的合成 (Eliyahu *et al.*, 2003; Lu *et al.*, 2014)。

研究表明 ACT 是生物合成最终性信息素组分不可缺少的酶，可将脂肪酸醇转化为相应的酯 (Jurenka and Roelofs, 1989)。然而，迄今为止，还没有与性信息素生物合成相关的 ACT 基因的功能特征报道。在柞蚕 *Antheraea pernyi* 性腺转录组中发现了 22 个 ACT，分析表明，3 个 *AperACTs* 基因在性腺组织中特异性表达，表明这些基因可能是 E6, Z11-16: OAc 和 E4, Z9-14: OAc 形成的关键基因 (Wang *et al.*, 2020)。从小菜蛾中鉴定出 21 个 ACTs，通过 FPKM 和 RT-qPCR 分析，仅 *PxyLACT7* 在性腺高度表达 (He *et al.*, 2017)。但在斑缘夜蛾 *Spodoptera inferens* 中没有表现出性腺偏向性表达的基因 (Zhang *et al.*, 2014)。梨星毛虫中的 3 个 ACT 基因 (*LpruACT1*、*LpruACT5* 和 *LpruACT9*) 表现出在雌性腹部特异性表达，这些基因的存在暗示着它们可能参与了丙二酰辅酶 A 和 NADPH 在饱和脂肪酸合成中的协同作用。研究表明，ACT 是许多蛾类性信息素合成途径中所需酶中最后结构修饰的关键酶，在幼虫期和成虫期都非常活跃，几乎只存在于性腺中 (Morse and Meughen, 1987; Eliyahu *et al.*, 2003)。在梨星毛虫中，存在 3 个 ACT 基因表现出在雌性腹部特异性表达，表明这些基因可能参与了相应醋酸酯的生物合成过程。

醛还原酶 (AR) 是一组醇酮还原酶，可催化脂肪醛还原成醇 (Bohren *et al.*, 1989)。梨星毛虫中 ARs 的数量要少于小线角木蠹蛾 (5 个 ARs) 和小地老虎 (11 个 ARs) (Gu *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2020)。AR 是一组醛酮还原酶，催化脂肪醛还原为醇 (Yang *et al.*, 2020)。*LpruAR1* 在雌性胸部及翅中高度表达，表明该基因可能在其他组织的发育过程中起作用，而在性腺细胞中不发挥功能；*LpruAR2* 在雌性腹部中高度表达，因此推测 *LpruAR2* 基因可能参与了醛还原过程。在性信息素生物合成中，很难区分 AR 是先产生醛，然后再被转化为醇，还是相反的过程 (Bjostad and Roelofs, 1984)，还需更深入一步研究。

本研究共发现了 1 个 *LpruFAS*，相较于其它已报道的鳞翅目昆虫中，如黄地老虎 (6 个 *FASs*)、大螟 *Sesamia inferens* (3 个 *FASs*) 等，*FAS* 数量略少 (Zhang *et al.*, 2014; Ding and Lofstedt, 2015)。*LpruFAS* 在梨星毛虫雌性腹部的表达存在显著差异，且呈现雌性偏好表达模式。同位素标记实验证明了蛾类昆虫性腺中的 *FAS* 是产生棕榈酸 (C16) 和硬脂酸 (C18) 的关键 (Bjostad and Roelofs, 1984; Tang *et al.*, 1989)。表明 *LpruFAS* 基因可能与乙酰辅酶 A、丙二酰辅酶 A、NADPH 共同作用，参与长链脂肪酸的合成。

本研究基于梨星毛虫雌雄腹部及雌性翅转录组数据库，共筛选鉴定出 21 个性信息素合成酶基因，包括 3 个 *Dess*、2 个 *FARs*、1 个 *FAS*、10 个 *ACTs*、3 个 *ACCs* 和 2 个 *ARs* 并对其进行生物信息学及表达水平分析，结果显示 21 个梨星毛虫性信息素合成酶基因在雌雄成

虫不同组织中均有表达，且呈现出不同的表达水平，其中 19 个性信息素合成酶基因在雌性腹部及翅表达水平较高。本研究结果为选择梨星毛虫高效绿色防控的分子靶标提供理论基础。

### 参考文献 (References)

- Ales B, Petra M, Heiko V, *et al.* Evolution of moth sex pheromone composition by a single amino acid substitution in a fatty acid desaturase [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112 (41): 12586-12591.
- Ando T, Inomata S, Yamamoto M. Lepidopteran sex pheromones [J]. *The Chemistry of Pheromones and Other Semiochemicals I*, 2004, 239: 51-96.
- Bjostad LB, Roelofs WL. Biosynthesis of sex pheromone components and glycerolipid precursors from sodium [1-14C] acetate in redbanded leafroller moth [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 1984, 10 (4): 681-691.
- Bohren KM, Bullock B, Wermuth B, *et al.* The aldo-keto reductase superfamily cDNAs and deduced amino acid sequences of human aldehyde and aldose reductases [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1989, 264 (16): 9547-9551.
- Bucek A, Vogel H, Matouskova P, *et al.* The role of desaturases in the biosynthesis of marking pheromones in bumblebee males [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2013, 43 (8): 724-731.
- Carot-Sana G, Munoz L, Piulacha MD, *et al.* Identification and characterization of a fatty acyl reductase from a *Spodoptera littoralis* female gland involved in pheromone biosynthesis [J]. *Insect Molecular Biology*, 2015, 24 (1): 82-92.
- Chen DS, Dai JQ, Han SC. Identification of the pheromone biosynthesis genes from the sex pheromone gland transcriptome of the diamondback moth, *Plutella xylostella* [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7 (1): 16255.
- Ding BJ, Lofstedt C. Analysis of the *Agrotis segetum* pheromone gland transcriptome in the light of sex pheromone biosynthesis [J]. *BMC Genomics*, 2015, 16 (1): 711.
- Dong LY, Zhang ZL, Wu JB, *et al.* Effect of Inhibitors and Activators on Protease Activity in the Midgut of *Illiberis pruni* [J]. *Acta Agriculturae Borealioccidentalis 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]
- Eliyahu D, Applebaum S, Rafaeli A. Moth sex-pheromone biosynthesis is inhibited by the herbicide diclofop [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2003, 77 (2): 75-81.
- Fujii T, Ito K, Tatematsu M, *et al.* Sex pheromone desaturase functioning in a primitive Ostrinia moth is cryptically conserved in congeners' genomes [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108 (17): 7102-7106.
- Grapputo A, Thrimawithana AH, Steinwender B, *et al.* Differential gene expression in the evolution of sex pheromone communication in New Zealand's endemic leafroller moths of the genera *Ctenopseustis* and *Planotortrix* [J]. *BMC Genomics*, 2018, 19 (1): 94.
- Gu SH, Wu KM, Guo YY, *et al.* Identification of genes expressed in the sex pheromone gland of the black cutworm *Agrotis ipsilon* with putative roles in sex pheromone biosynthesis and transport [J]. *BMC Genomics*, 2013, 14: 636.
- Hagstrom AK, Albre J, Tooman LK, *et al.* A novel fatty acyl desaturase from the pheromone glands of *ctenopseustis obliquana* and *C. herana* with specific Z5-desaturase activity on myristic acid [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2014, 40 (1): 63-70.
- Hagstrom AK, LienNard MA, Groot AT, *et al.* Semi-selective fatty acyl reductases from four heliothine moths influence the specific pheromone composition [J]. *PLoS ONE*, 2018, 7 (5): e37230.
- Hao GX, O'connor M, Liu W, *et al.* Characterization of Z/E11- and Z9-desaturases from the obliquebanded leafroller moth, *Choristoneura rosaceana* [J]. *Journal of Insect Science*, 2002, 2: 26.
- He P, Zhang YF, Hong DY, *et al.* A reference gene set for sex pheromone biosynthesis and degradation genes from the diamondback moth, *Plutella xylostella*, based on genome and transcriptome digital gene expression analyses [J]. *BMC Genomics*, 2017, 18 (1): 219.
- Hoshi H, Takabe M, Nakamura K. Mating disruption of a carpenter moth, *Cossus insularis* (Lepidoptera: Cossidae) in apple orchards with synthetic sex pheromone, and registration of the pheromone as an agrochemical [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2016, 42 (7): 606-611.
- Jia ZK, Liu MG. Current status of insect sex pheromones [J]. *The Journal of Hebei Forestry Science and Technology*, 2010, 3: 50-52. [贾宗锴, 刘满光. 昆虫性信息素研究现状 [J]. 河北林业科技, 2010, 3: 50-52]
- Jurenka R. Insect pheromone biosynthesis [J]. *The Chemistry of Pheromones and Other Semiochemicals I*, 2004, 239: 97-132.
- Jurenka RA, RoelOofs WL. Characterization of the acetyltransferase used in pheromone biosynthesis in moths: Specificity for the Z isomer in tortricidae [J]. *Insect Biochemistry*, 1989, 19 (7): 639-644.
- Knipple DC, Rosenfield CL, Nielsen R, *et al.* Evolution of the integral membrane desaturase gene family in moths and flies [J]. *Genetics*, 2002, 162 (4): 1737-1752.
- Lassance JM, Groot AT, Lienard MA, *et al.* Allelic variation in a fatty-acyl reductase gene causes divergence in moth sex pheromones [J]. *Nature*, 2010, 466 (7305): 486-489.
- Lassance JM, Lienard MA, Antony NB, *et al.* Functional consequences of sequence variation in the pheromone biosynthetic gene pgFAR

- for *Ostrinia moths* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110 (10): 3967-3972.
- Li DM, Li J, Li LC. *Illiberis pruni* sex pheromone research IV—Preliminary identification of the chemical components of sex pheromone [J]. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 1997, 25 (1): 63-66. [李冬梅, 李捷, 李连昌. 梨星毛虫性信息素研究IV—性信息素化学组分的初步鉴定 [J]. 山西农业科学, 1997, 25 (1): 63-66]
- Li DM, Shi GL, Li J, et al. *Illiberis pruni* sex pheromone research II—Determination of the secretion site of sex pheromone [J]. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 1996, 24 (4): 24-30. [李冬梅, 师光录, 李捷, 等. 梨星毛虫性信息素研究II—性信息素分泌部位的测定 [J]. 山西农业科学, 1996, 24 (4): 24-30]
- Liang Y, Luo M, Fu XG, et al. Mating disruption of *Chilo suppressalis* from sex pheromone of another pyralid rice pest *Cnaphalocrocis medinalis* (Lepidoptera: Pyralidae) [J]. *Journal of Insect Science*, 2020, 20 (3): 19.
- Lienard MA, Lofsted C. Functional flexibility as a prelude to signal diversity? Role of a fatty acyl reductase in moth pheromone evolution: Role of a fatty acyl reductase in moth pheromone evolution [J]. *Communicative & Integrative Biology*, 2010, 3 (6): 586-588.
- Liu W, Jiao H, O'Connor M, et al. Moth desaturase characterized that produces both Z and E isomers of delta 11-tetradecenoic acids [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2002, 32 (11): 1489-1495.
- Liu W, Rooney AP, Xue B, et al. Desaturases from the spotted fireworm moth (*Choristoneura parallela*) shed light on the evolutionary origins of novel moth sex pheromone desaturases [J]. *Gene*, 2004, 342 (2): 303-311.
- Lu YD, Zhou WX, Wei L, et al. Regulation of the cholesterol biosynthetic pathway and its integration with fatty acid biosynthesis in the oleaginous microalga *Nannochloropsis oceanica* [J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2014, 7 (1): 81.
- Lucchi A, Sambado P, Juan RAB, et al. Disrupting mating of *Lobesia botrana* using sex pheromone aerosol devices [J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2018, 25 (22): 22196-22204.
- Luo J, Liu XY, Liu L, et al. De novo analysis of the *Adelphocoris suturalis* Jakovlev metathoracic scent glands transcriptome and expression patterns of pheromone biosynthesis-related genes [J]. *Gene*, 2014, 551: 271-278.
- Matsumoto S. Molecular mechanisms underlying sex pheromone production in moths [J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2010, 74 (2): 223-231.
- Mencil JN. Behavioral ecology of pheromone-mediated communication in moths and its importance in the use of pheromone traps [J]. *Annu Rev Entomol*, 1991, 36: 407-430.
- Morse D, Meughen E. Biosynthesis of the acetate ester precursor of the spruce budworm sex pheromone by an acetyl CoA: Fatty alcohol acetyltransferase [J]. *Insect Biochem*, 1987, 17: 53-59.
- Moto K, Yoshigat, Yamamoto M, et al. Pheromone gland-specific fatty-acyl reductase of the silkworm, *Bombyx mori* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, 100 (16): 9156-9161.
- Raina AK, Wergin WP, Murphy CA, et al. Structural organization of the sex pheromone gland in *Helicoverpa zea* in relation to pheromone production and release [J]. *Arthropod Struct Dev*, 2000, 29: 343-353.
- Roelofs WL, Liu W, Hao G, et al. Evolution of moth sex pheromones via ancestral genes [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99 (21): 13621-13626.
- Roelofs WL, Rooney AP. Molecular genetics and evolution of pheromone biosynthesis in Lepidoptera [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, 100 (16): 9179-9184.
- Subchev MA, Efetov KA, Toshova TB, et al. Sex pheromones as isolating mechanisms in two closely related *Illiberis* species—*I. (Primilliberis) rotundata* Jordan, 1907, and *I. (P.) pruni* Dyar, 1905 (Lepidoptera: Zygaenidae, Procridinae) [J]. *Entomologist's Gazette*, 2016, 67 (1): 51-57.
- Subchev M, Koshio C, Toshova T B, et al. (2R)-butyl (7Z)-Dodecenoate, a Main Sex Pheromone Component of *Illiberis* (*Primilliberis*) *pruni* Dyar (Lepidoptera: Zygaenidae: Procridinae) [J]. *Acta Zoologica Bulgarica*, 2013, 65 (2013): 391-396.
- Tang JD, Charlton RE, Jurenka RA, et al. Regulation of pheromone biosynthesis by a brain hormone in two moth species [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1989, 86 (6): 1806-1810.
- Tillman JA, Seybold SJ, Jurenka RA, et al. Insect pheromones—an overview of biosynthesis and endocrine regulation [J]. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 1999, 29: 481-514.
- Wang HL, Lienard MA, Zhao CH, et al. Neofunctionalization in an ancestral insect desaturase lineage led to rare  $\Delta 6$  pheromone signals in the Chinese tussah silkworm [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2010, 40 (10): 742-751.
- Wang QH, Gong Q, Fang SM, et al. Identification of genes involved in sex pheromone biosynthesis and metabolic pathway in the Chinese oak silkworm, *Antheraea pernyi* [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 163: 1487-1497.
- Witzgall P, Kirsch P, Cork A. Sex pheromones and their impact on pest management [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2010, 36: 80-100.
- Wu WQ, Zhu JW, Millar J, et al. A comparative study of sex pheromone biosynthesis in two strains of the turnip moth, *Agrotis segetum*, producing different ratios of sex pheromone components [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 1998, 28: 895-900.
- Yan WT, Zhang HJ, Yue Q, et al. The diagnostic and practical control techniques of *Illiberis pruni* in a pear orchard [J]. *Practical Techniques and Information for Fruit Trees*, 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,

果树实用技术与信息, 2020, 10: 39-40]

- Yang WM. Occurrence patterns and integrated non-toxic control techniques of *Illiberis pruni* [J]. *Modern Rural Technology*, 2022, 11: 38-39. [杨伟民. 梨星毛虫发生规律及无公害综合防治技术 [J] 现代农村科技, 2022, 11: 38-39]
- Yang YC, Tao J, Zong SX. Identification of putative Type-I sex pheromone biosynthesis-related genes expressed in the female pheromone gland of *Streltziella insularis* [J]. *PLoS ONE*, 2020, 15 (1): e0227666.
- Zhang YN, Xia YH, Zhu JY, *et al.* Putative pathway of sex pheromone biosynthesis and degradation by expression patterns of genes identified from female pheromone gland and adult antenna of *Sesamia inferens* (Walker) [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2014, 40 (5): 439-451.
- Zhu SY, Shanean T, Li R, *et al.* Transcriptome analysis and identification of sex pheromone biosynthesis and transport related genes in *Atrijuglans heaaohei* (Lepidoptera: Gelechioidea) [J]. *Insect Molecular Biology*, 2021, 31 (3): 273-285.