

基因组学时代害虫治理的研究进展及前景*

彭露^{1,2,3**} 何玮毅^{1,2,3} 夏晓峰^{1,2,3} 谢苗^{1,2,3} 柯富士^{1,2,3} 尤士骏^{1,4}
黄宇萍^{1,2,3} 尤民生^{1,2,3***}

(1. 福建农林大学应用生态研究所, 福州 350002; 2. 闽台特色作物病虫害生态防控协同创新中心, 福州 350002; 3. 农业部闽台作物有害生物综合治理重点实验室, 福州 350002; 4. 加拿大英属哥伦比亚大学植物系, 温哥华 V6T 1Z4)

摘要 随着 DNA 测序技术的不断更新和生物信息学的快速发展, 昆虫基因组学的研究与日俱增, 提高了人们对种群遗传学和进化生态学的理解和认识, 促进了对重要农业害虫的适应性和致害机理的研究, 为安全、有效、可持续地开展害虫综合治理提供了新思路和新手段。近两年来, 全球发布的昆虫基因组数量每年可达 30 个。在遗传学、生态学和进化论等生命科学基本原理和方法的指导下, 基因组学的研究为揭示害虫遗传变异的内在机制、生态适应性策略和种群变动规律提供了重要的数据和信息资源, 同时催生了一系列害虫治理新技术和新方法的研发与应用。为了进一步促进和加强基因组时代的害虫治理研究, 拓展该领域研究的广度与深度, 本文就昆虫基因组的研究, 昆虫与植物协同进化模式及其互作机理, 昆虫免疫和抗药性分子机制, 以及害虫防治新技术等方面进行了综述, 旨在为了解基因组时代害虫治理的研究进展及前景提供参考, 对进一步改进害虫生态控制的策略和措施也具有指导意义。

关键词 昆虫基因组, 协同进化, 免疫, 抗药性, 害虫治理

Prospects for the management of insect pests in the genomic era

PENG Lu^{1,2,3**} HE Wei-Yi^{1,2,3} XIA Xiao-Feng^{1,2,3} XIE Miao^{1,2,3} KE Fu-Shi^{1,2,3}
YOU Shi-Jun^{1,4} HUANG Yu-Ping^{1,2,3} YOU Min-Sheng^{1,2,3***}

(1. Institute of Applied Ecology, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 2. Fujian-Taiwan Joint Centre for Ecological Control of Crop Pests, Fuzhou 350002, China; 3. Key Laboratory of Integrated Pest Management of Fujian and Taiwan, China Ministry of Agriculture, Fuzhou 350002, China; 4. Department of Botany, University of British Columbia, Vancouver, BC V6T 1Z4, Canada)

Abstract The rapid development of DNA sequencing technology and bioinformatics has resulted in an increase in genomic studies of insects. Better knowledge of population genetics and evolutionary ecology has allowed better understanding of the local/global adaptation and infestation mechanisms of key agricultural pests, thereby providing novel strategies and approaches for the implementation of integrated pest management (IMP) in a safe, cost-effective and sustainable manner. Genome information has been released for approximately 30 insect species annually over the past two years. Genomic-related studies of agricultural insect herbivores generate a great deal of important data, and reveal the mechanisms underlying the genetic variation, strategic adaptation, and the population dynamics, of these pests. Such studies, in conjunction with the general principles and methods of classical genetics, ecology and evolution, have facilitated the development of novel technology and tools for pest management. This article is an overview of progress in research on insect genomic researches, co-evolution, the interactive mechanisms between

* 资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金 (31320103922, 31230061, 31401744)

**第一作者 First author, E-mail: pl526520@163.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: msyou@iae.fjau.edu.cn

收稿日期 Received: 2014-12-24, 接受日期 Accepted: 2014-12-31

plants and herbivores, molecular mechanisms of insect immunity and resistance to insecticides, as well as the development of new techniques for pest management. We believe that this review updates existing information and provides sound prospects for improving the strategies and tactics currently employed in ecologically-based pest management.

Key words insect genome, co-evolution, immunity, insecticide resistance, pest management

人类与害虫的斗争已经走过了漫长的历史。在与害虫斗争的实践中,人类不断地总结经验,提高认识,改变策略,以及采用新的技术和方法。在我国,农业防治、灯火诱杀和矿物药剂治虫等方法开始于纪元前 300 多年,以虫治虫的方法已有 1 600 多年的历史,选择抗虫品种在 1 500 多年前就有比较详细的记载(马世骏, 1979)。第二次世界大战之后的 60 多年以来,有机化学农药的大量生产和广泛使用,有效地控制了一些害虫的危害,对农业生产和人类健康做出了巨大贡献(蒲蛰龙等, 1979)。但是,化学杀虫剂的大量不合理使用,不仅给人类自身的健康带来威胁,而且使很多害虫产生严重的抗药性(Resistance),导致有些害虫再增猖獗(Resurgence)和次要害虫上升为主要害虫,不少地方甚至陷入农药越用越多、虫害愈演愈烈的恶性循环(Reddy, 2001; 孙向东, 2005; 魏佳宁等, 2012),同时,农药残留(Residue)引起了污染土壤和水资源、破坏农业生物多样性等一系列的生态、环境和社会问题。因此,寻求安全、有效、可持续控制害虫的新思路和新技术,不仅有利于减少化学农药的使用,而且有利于提高农作物的产量和品质,促进农业生产的持续和健康发展。

为了更好地利用和发挥各种自然因子对害虫的控制作用,害虫治理的研究必须以生态学的原理和方法为指导。传统的生态学研究多数集中在物种的个体、种群、群落和生态系统等宏观领域,所观察到的从个体到生态系统之间的性状以及互作关系主要只局限于表观特征,而要辨识和解析这些表观特征,以及运用物种间的互作原理开展害虫治理工作,则需要深入探索每一物种的遗传组成及与所处环境的综合作用(黄勇平和朱湘雄, 2003)。现代生物技术与信息技术给昆虫学与害虫治理研究提供了新思路和新手段。特别是近些

年,随着 DNA 测序技术和相关生物信息学的迅速发展,有力地促进了昆虫基因组学的研究。

基因组学(Genomics)是对生物体全基因组结构、功能及其进化模式的研究,也是对生物体内整套遗传信息的分析(Heckel, 2003),为解析从个体到生态系统之间的表观性状及其互作关系奠定了基础。主要包括两方面:以全基因组测序为目标的结构基因组学(Structural genomics)和以基因功能鉴定为目标的功能基因组学(Functional genomics),后者又被称为后基因组(Postgenome)研究,已成为系统生物学研究的重要方法。越来越多的研究表明,应用基因组技术能够揭示害虫遗传变异的内在机制及其演化规律(You *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2014),害虫-植物协同进化模式及其互作机理(You *et al.*, 2013; Duvaux *et al.*, 2014),害虫环境适应性机制,如分子免疫(Bulmer *et al.*, 2009; Xia *et al.*, 2013)、抗药性(You *et al.*, 2013; Carvalho *et al.*, 2013);也能够促进高效和持续害虫控制新技术的研发,如行为调节剂(Guo *et al.*, 2011; 魏佳宁等, 2012)、转基因抗性品种(Mao *et al.*, 2007)、新型杀虫蛋白(Richards *et al.*, 2013)、新型农药作用靶标(Wang *et al.*, 2013; Shang *et al.*, 2014)等。可以预见,随着越来越多害虫基因组的破译和解析,将为深入研究害虫发生的分子基础、遗传机制和进化过程提供重要的数据资源,同时也可对害虫持续控制提供新思路 and 新技术。

1 昆虫基因组的研究

自从 2000 年第一个模式昆虫果蝇 *Drosophila melanogaster* 基因组的破译(Adams *et al.*, 2000)至 2005 年首个新一代测序技术平台的问世(Margulies *et al.*, 2005),以每年完成 1~2 个昆虫基因组的速度增长;随后几年的增长速度加

快, 每 2~3 年就有 10 个以上昆虫基因组发布。在这样的背景下, 美国伊利诺伊大学的 Robinson 等美英两国科学家于 2011 年致信 *Science* 期刊, 宣告这项昆虫学的曼哈顿计划——5 000 种昆虫等节肢动物基因组测序计划 (简称“i5k”) 的正式启动 (Robinson *et al.*, 2011)。2012 年, 来自世界各地的昆虫学家汇聚一堂共谋良方, 最终确定了“i5k”联盟所关注的目标物种以及相关项目、技术和人员的配套问题 (Evans *et al.*, 2013)。近两年全世界发布的昆虫基因组的数量达到每年 30 个左右 (图 1) (NCBI, 2014)。在已经公布的与农、林相关的昆虫基因组中, 主要是由美国、中国、英国和加拿大主导完成的, 其中, 由中国主导完成的有 4 个 (表 1, 仅次于美国), 表明我国的科研人员对昆虫基因组的研究和发展起到了重要的作用。

目前, 利用基因组学的方法, 已成功解决了一些长久以来颇受关注的进化生态学问题, 并鉴定了昆虫某些关键生物学性状控制基因。例如, 发现了家蚕 *Bombyx mori* 是由具有大量有效个体数的野生蚕 *B. mandarina* 群体在近期演化而来, 并鉴定出了 354 个与驯化过程相关的基因, 可能涉及蚕丝生产、食物消化和生殖等重要生物学功能 (Xia *et al.*, 2009); 通过比较蛱蝶属中诗神袖

蝶 *Heliconius melpomene*、白袖蝶 *H. timareta* 以及艳丽袖蝶 *H. elevates* 3 个物种基因组, 发现不同基因组中两个控制拟态区域的交流十分频繁, 推测蛱蝶属近缘物种之间存在保护色基因的交换, 暗示着不同物种杂交可能在适应性扩散过程中起到了重要的作用 (Kanchon *et al.*, 2012); 对帝王斑蝶 *Danaus plexippus* 的重测序研究发现, 其起源于一个北美的迁飞种群, 伴随了 3 次连续的扩散事件, 最终建立起现今的分布格局, 而警戒色则由肌球蛋白单基因所决定 (Zhan *et al.*, 2014); 全球范围内的意大利蜜蜂 *Apis mellifera* 基因组研究表明, 与不同地理种群当地适应性相关的基因参与了免疫和精子活动性能等重要生理过程, 与它们能够大量快速的繁殖、扩散以及具有较强的抗病性有关 (Wallberg *et al.*, 2014); 非模式农业害虫小菜蛾 *Plutella xylostella* 高度杂合基因组的破译, 揭示了其与寄主植物协同进化的相互关系和对外源有毒物质的解毒能力 (You *et al.*, 2013)。

随着越来越多的昆虫基因组的完成, 让我们可以使用比较基因组学、进化基因组学和群体遗传学等方法, 从微观的角度阐明或预测昆虫某些重要经济性状或致害特性的内在分子机制, 有助于更好地开发和利用基于基因组的害虫防控或益虫保护的新方法和新技术。

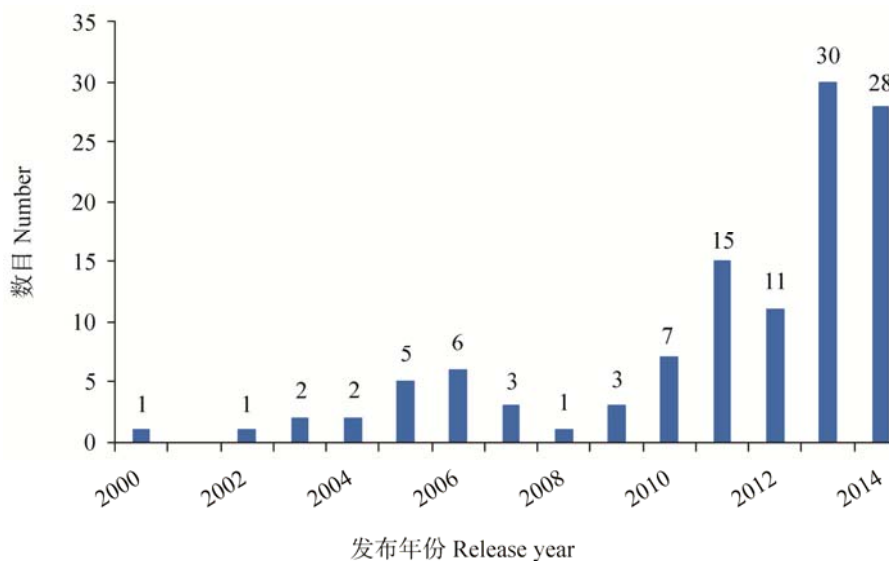


图 1 2000—2014 年全世界每年发布的昆虫基因组数量

Fig. 1 Annual number of the insect genomes published worldwide during 2000-2014

表 1 已发布的农林业相关昆虫基因组
Table 1 Published insect genomes associated with agriculture and forestry

物种 Species	分类阶元 (目) Taxon (Order)	基因组大小 Genome size	发布时间 Published time	主导国家 Leading country	参考文献 Reference
果蝇 <i>Drosophila melanogaster</i>	双翅目 Diptera	120 Mb	2003.03	美国 USA	Adams <i>et al.</i> , 2000
赤拟谷盗 <i>Tribolium castaneum</i>	鞘翅目 Coleoptera	160 Mb	2008.02	美国 USA	Richards <i>et al.</i> , 2008
山松甲虫 <i>Dendroctonus ponderosae</i>	鞘翅目 Coleoptera	204 Mb	2013.03	加拿大 Canada	Keeling <i>et al.</i> , 2013
豌豆长管蚜 <i>Acyrtosiphon pisum</i>	半翅目 Hemiptera	446.6 Mb	2010.01	美国 USA	The International Aphid Genomics Consortium, 2010
家蚕 <i>Bombyx mori</i>	鳞翅目 Lepidoptera	428.7 Mb	2004.10	中国 China	Xia <i>et al.</i> , 2004
帝王斑蝶 <i>Danaus plexippus</i>	鳞翅目 Lepidoptera	273 Mb	2011.09	美国 USA	Zhan <i>et al.</i> , 2011
3 种袖蝶属蝴蝶 <i>Heliconius melpomene</i> , <i>H. timareta</i> , <i>H. elevatus</i>	鳞翅目 Lepidoptera	269 Mb	2012.03	英国 UK	Kanchon <i>et al.</i> , 2012
小菜蛾 <i>Plutella xylostella</i>	鳞翅目 Lepidoptera	343 Mb	2012.12	中国 China	You <i>et al.</i> , 2013
二化螟 <i>Chilo suppressalis</i>	鳞翅目 Lepidoptera	670 Mb	2014.02	中国 China	Yin <i>et al.</i> , 2014
烟草天蛾 <i>Manduca sexta</i>	鳞翅目 Lepidoptera	405 Mb	2011.05	美国 USA	Brown and Brown, 2012
飞蝗 <i>Locusta miratoria</i>	直翅目 Orthoptera	6.5 Gb	2013.11	中国 China	Wang <i>et al.</i> , 2014
竹节虫 <i>Timema cristinae</i>	竹节虫目 Phasmida	1 Gb	2014.04	英国 UK	Soria-Carrasco <i>et al.</i> , 2014
意蜂 <i>Apis mellifera</i>	膜翅目 Hymenoptera	236 Mb	2006.09	美国 USA	Weinstock <i>et al.</i> , 2006
隧蜂 <i>Lasioglossum albipes</i>	膜翅目 Hymenoptera	350.8 Mb	2013.12	美国 USA	Kocher <i>et al.</i> , 2013
3 种金小蜂 <i>Nasonia vitripennis</i> , <i>N. giraulti</i> , <i>N. longicornis</i>	膜翅目 Hymenoptera	295 Mb	2009.11	美国 USA	Werren <i>et al.</i> , 2010
榕小蜂 <i>Ceratosolen solmsi</i>	膜翅目 Hymenoptera	277.9 Mb	2012.12	中国 China	Xiao <i>et al.</i> , 2013

2 昆虫与植物互作的分子机理

昆虫和植物都是地球上起源较早的生物类群 (Labandeira, 2013; Yuan *et al.*, 2013)。古化石研究证实, 早在 4 亿年前昆虫与植物已建立起密切的关系 (Labandeira, 2013), 它们为了自身的生存与发展, 根据营养、繁殖、扩散、保卫等需要, 形成了复杂的种间互作关系和适应性机制 (Anderson and Mitchell-Olds, 2011; Johnson, 2011)。因此, 研究昆虫与植物互作机理, 成为分类学、遗传学、生态学、古生物学等领域学者关注的焦点。魏佳宁等 (2012) 从植物化学信息分子的基因调控机制、寄主植物与害虫之间的化学通讯、昆虫嗅觉识别的分子机制三个层面综述了昆虫与植物互作的科学问题及研究进展。近年来, 基于基因组研究昆虫与植物互作中的相关基因位点及其调控网络, 提升了我们对昆虫与植物协同进化关系的认识, 丰富了害虫治理的基础理论和技术途径 (Ali and Agrawal, 2012; You *et al.*, 2013)。

昆虫取食或产卵等行为产生的激发子及其相关分子模式 (Herbivore-associated molecular patterns, HAMPs) 是一类重要的信号分子, 可诱导植物启动不同的级联反应信号途径 (Peiffer *et al.*, 2009; Tooker *et al.*, 2010), 如诱导植物 Ca^{2+} 流动, 加快促分裂原激活蛋白激酶的活化 (MAPKs), 促进茉莉酸 (JA)、水杨酸 (SA) 与乙烯 (ET) 等防御信号物质的合成与激活, 诱导活性氧 (ROS) 产生, 从而引发植物产生有毒次生物质, 如芥子油苷, 生物碱与酚类化合物等 (Boulogne *et al.*, 2012; Bonaventure, 2014), 促进植物挥发性物质产生, 从而诱导直接防御, 趋避效应以及利用天敌进行协同防御等 (Schuman *et al.*, 2012; Geiselhardt *et al.*, 2013)。Signoretti 等 (2012) 证实, 草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 偏好选择未被取食过的玉米植株, 以逃避竞争者与天敌危害。松叶蜂 *Diprion pini* 产卵可增强欧洲赤松 *Pinus sylvestris* 体内倍半萜烯合成基因 *PsTPS1* 和 *PsTPS2* 的转录表达 (Koepke *et al.*, 2008), 它们是引发松叶蜂卵寄生的标记物质 (Koepke *et al.*, 2010)。但面对强大的植

物防御体系, 植食性昆虫在选择压力的作用下也演化出多种反防御调控网络, 例如释放效应蛋白 (Effectors) 干扰植物防御, 行为逃避, 以及消化解毒等, 以维持种群发展 (Oppel *et al.*, 2009; 彭露等, 2010)。例如, 在蚜虫-植物协同进化中, 其嗅觉与唾液系统相关基因区域受到强烈选择, 这与昆虫寄主识别 (Smadja *et al.*, 2009) 以及抑制植物防御反应 (Bos *et al.*, 2010) 密切相关。作为十字花科蔬菜的专食性害虫, 小菜蛾也进化出一组特殊的基因调控网络 (You *et al.*, 2013), 用于对抗寄主植物中特有的防御物质硫代葡萄糖苷化合物及其水解产物 (Hopkins *et al.*, 2009)。由此可见, 剖析植食性昆虫反防御的分子机理与调控网络, 不仅有利于基础生物学研究, 对基于基因组学的害虫治理也极其重要。

口腔分泌物作为植食性昆虫抵抗植物防御反应的首要屏障 (Consales *et al.*, 2012), 也是释放效应蛋白的主要途径。效应蛋白分为主效应蛋白、次效应蛋白和网络效应蛋白。主效应蛋白可直接或间接改变寄主植物的细胞结构和防御信号; 例如, 鳞翅目昆虫唾液葡萄糖氧化酶 (Glucose oxidase, GOX) 能通过激活 SA 信号途径削弱 JA 和 ET 信号途径, 从而干扰植物防御 (Diezel *et al.*, 2009)。次效应蛋白具有补偿效应, 主要促进解毒代谢与营养吸收; 例如, 唾液羧酸酯酶 (Carboxylesterase) 能够降解包含酯酶结构域的植物毒素 (Felton *et al.*, 2014)。网络效应蛋白则关注不同物种效应蛋白以及同一物种不同效应蛋白之间的互作关系 (Felton *et al.*, 2014)。Musser 等 (2002) 首次证实了植食性昆虫可分泌效应蛋白, 结果显示, 玉米螟 *Helicoverpa zea* 能分泌 GOX 以抑制烟草有毒物质烟碱的产生。研究人员在黑森瘿蚊 *Mayetiola destructor* 基因组中鉴定出潜在的效应蛋白编码基因 (如 *vH6*、*vH9* 和 *vH13*) (Schulte *et al.*, 1999; Rider *et al.*, 2002), 通过转录分析发现黑森瘿蚊幼虫唾液脂肪酶具有次级效应蛋白的特性, 能够改变植物细胞的渗透性或提高其寄主消化效率 (Shukle *et al.*, 2009)。Carolan 等 (2011)

通过转录组和蛋白组分析,鉴定出豌豆蚜唾液中的 300 多种候选效应蛋白。Thivierge 等 (2010) 发现,甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 唾液可导致拟南芥 JH 合成酶 (脂氧合酶 2) 与伴侣蛋白发生不同的磷酸化作用,从而抑制其 JH 防御信号产生。而欧洲粉蝶 *Pieris brassicae* 与海灰翅夜蛾 *Spodoptera littoralis* 回流液能抑制拟南芥防御基因的表达,从而促进其幼虫生长,但相关的效应蛋白仍不明确 (Consales *et al.*, 2012)。随着大数据分子时代的到来,给昆虫效应蛋白的鉴定研究提供了便利,但对于效应蛋白调控网络的功能验证仍需进一步加强。

蛋白酶抑制剂 (Protease inhibitors, PIs) 是重要的植物防御蛋白,可抑制植食性昆虫消化与营养摄取效率,从而导致其发育延迟、死亡率升高、繁殖力下降等 (Gatehouse, 2011; Zhu-Salzman and Zeng, 2015)。然而,在协同进化过程中,植食性昆虫已发展形成相应的应对策略,包括过量产生对抑制剂敏感的消化酶;提高对抑制剂不敏感的蛋白亚型的表达水平;增强蛋白酶的解毒活性 (Zhu-Salzman *et al.*, 2003) 等。大多数昆虫均能同时利用多种策略以避免 PIs 的不利影响 (Zhu-Salzman and Zeng, 2015)。马铃薯叶甲 *Leptinotarsa decemlineata* 中肠基因鉴定发现了不同结构的半胱氨酸蛋白酶,以及丝氨酸蛋白酶、纤维素酶、多聚半乳糖醛酸内切酶等消化酶和保幼激素结合蛋白等,这些均与叶甲适应马铃薯的防御反应密切相关 (Petek *et al.*, 2012)。取食蛋白酶抑制剂 E-64 虽能导致赤拟谷盗体内总的半胱氨酸酶活性下降 (Barrett *et al.*, 1982),但仅有部分转录基因的表达受到抑制,其他基因表达上调可弥补活性损失 (Oppert *et al.*, 2010)。四纹豆象 *Callosobruchus maculatus* 通过调节细胞内 HNF-4 与 CmSvp 两个转录因子的平衡从而调控对大豆半胱氨酸蛋白酶抑制剂 N (Soybean cysteine protease inhibitor N, scN) 不敏感的组织蛋白酶 B 基因 *CmCatB* 表达,说明昆虫反防御基因激活可能涉及复杂的转录调节网络 (Ahn *et al.*, 2010)。此外,植物 PIs 还可与其他防御

物质协同作用,以加强其防御效应 (Zhu-Salzman and Zeng, 2015)。Guo 等 (2012) 研究证实,植物有毒次生物质佛手柑内酯与 scN 同时处理时,四纹豆象反防御基因的表达水平明显下降,且发育延迟。Dawkar 等 (2011) 研究也显示,PIs 与有毒次生物质同时存在时,消化酶与解毒酶的对抗调节显著降低了棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 在非寄主植物鹰嘴豆 *Cicer arietinum* 上的适应性。说明不同化合物之间诱导的补偿反应有时并不是独立的,昆虫适应一种防御机制的能力可能会受制于其他物质的协同作用。

在自然界,物种之间的相互作用和信息联系以及彼此之间的适应机制是复杂的,可能涉及到多个物种在两个营养级或多个营养级上的联系网路和协同作用 (Dicke *et al.*, 2009; Holopainen and Gershenzon, 2010; Wei and Kang, 2011)。例如,植物通常需要面对多种生物的共同作用 (Lucas-Barbosa *et al.*, 2011),且不同的危害顺序导致了植物防御途径间的正、负交联效应 (Bruce, 2014);利用植物信号传导途径间的负交联效应也是植食性昆虫反防御的重要机制 (Koornneef and Pieterse, 2008);在研究植物-昆虫相互作用时人们也经常关注植食性昆虫危害诱导的化合物 (HIPVs) 对害虫和天敌的影响,即“植物-昆虫-天敌”三级营养关系的问题 (Dicke *et al.*, 2009; Wei and Kang, 2011)。更有趣的是,地上部与地下部昆虫虽未直接接触,彼此间仍能产生交互效应 (Bruce and Pickett, 2007)。Robert 等 (2012) 发现,海灰翅夜蛾危害玉米叶片后,玉米根萤叶甲 *Diabrotica virgifera virgifera* 幼虫的发育能力显著下降。此外,共生菌、微生物等在昆虫-植物互作中也扮演着重要角色 (Frago *et al.*, 2012; Bruce, 2014)。植物-昆虫-微生物组成的共生功能体 (Holobiont) 打破了以动植物为中心研究协同进化的传统观点,近期发现,在协同进化中,微生物并非被动参与者,它们能控制信号或线索的传递者或接收者,被概括为“传递者/接受者操纵假说 (Sender or receiver manipulation hypothesis)”

(Junker, 2014)。研究证实, 马铃薯叶甲共生菌可激活传递者(寄主植物)的 SA 防御途径, 而使 JA 信号途径受到抑制, 这一负交联效应导致植物更易受咀嚼式昆虫危害 (Chung *et al.*, 2013)。虫生真菌球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* 孢子和它的次生代谢物能够增加麦扁盾蝽 *Eurygaster integriceps* 血淋巴中酯酶和谷胱甘肽 S-转移酶的活力, 从而提高其对植物次生有毒物质的代谢能力 (Zibae *et al.*, 2009)。Rosenberg 和 Zilber-Rosenberg (2011) 提出了植物-昆虫-微生物互作的全基因组 (Hologenome) 理论。但直至目前, 这一理论仍面临许多问题亟待解决, 例如, 微生物群落和宿主的共同进化的轨迹是什么, 何种信号主导了这一轨迹等。明确生态系统中不同生物间的协同互作, 找出植物防御信号分子间的交叉点和平衡点, 充分利用防御途径间的正向互作, 对防御昆虫危害具有重要意义。

3 昆虫免疫的分子机理

对入侵病原微生物的防御是所有生物最基础的生理反应。原核生物利用限制性内切酶以及一类具有成簇的规律间隔的短回文重复序列 (Clustered regularly interspaced palindromic repeats, CRISPRs) 来降解入侵病原菌 (Dunin-Horkawicz *et al.*, 2014)。随着真核生物的出现, 一系列用以维持细胞完整、内环境稳态以及宿主生存的防御机制也随之进化而来 (Buchmann, 2014)。昆虫是地球上物种多样性最丰富的类群, 这种进化上的成功反映了它们能够适应经常性变化以及多样化的病原微生物 (Evans and Schwarz, 2011)。昆虫只具有天然免疫系统 (Innate immunity), 其世代周期短, 基因组相对较小使其免疫系统能够快速进化 (Vilcinskas, 2013)。昆虫免疫防御的机制包括由一系列复杂的分子和不同层次的细胞为基础建立的能够识别和对抗病原微生物的免疫系统。病原模式识别受体 (Pattern recognition receptors, PRRs) 是在长期的自然进化过程中被选择出来的, 能够识别高度保守并且广泛分布的病原菌模式 (Microbial

patterns), 病原模式识别受体与病原体的互作调控着天然免疫的进程 (Janeway, 1989; Franc and White, 2000)。病原模式识别受体识别病原菌后, 会激发一系列的丝氨酸蛋白酶级联反应, 通过丝氨酸蛋白酶的级联反应将信号放大或者抑制, 从而激活体内的一系列免疫反应, 包括包埋、吞噬、黑化、以及由 Toll、Imd、JNK 等免疫通路调控的抗菌肽等效应因子的免疫应答 (Han *et al.*, 2000)。昆虫是研究免疫系统新机制的重要载体, 如免疫激活、食物以及共生微生物等环境因子对宿主免疫系统的影响等 (Chambers and Schneider, 2012)。对昆虫免疫系统的研究可为害虫治理提供新的思路和方法。伴随着基因组测序技术的迅猛发展, 科学家可以从基因组的层面进行免疫基因的筛选和鉴定, 大大提高了免疫基因鉴定的效率, 丰富了免疫基因资源库, 从而促进昆虫先天免疫应答机制的深入研究。当前, 基于基因组水平鉴定出完整的参与免疫应答相关基因的物种主要包括果蝇 (Irving *et al.*, 2001)、蚊子 (Waterhouse *et al.*, 2007)、蜜蜂 (Evans *et al.*, 2006)、家蚕 (Tanaka *et al.*, 2008)、赤拟谷盗 (Zou *et al.*, 2007)、烟草天蛾 (Gunaratna and Jiang, 2013) 以及小菜蛾 (数据暂未发表) 等。基于物种的遗传可操作性以及完善的免疫基因信息, 这些物种中, 果蝇、蚊子和烟草天蛾均是当前昆虫免疫研究最深入的物种。这些免疫基因的鉴定不仅为研究相应物种的免疫系统提供了基因资源, 同时还为利用比较基因组学的方法, 从其他已测序昆虫中分离鉴定免疫基因奠定了基础。此外, 转录组测序技术的广泛使用, 为我们能够快速鉴别和筛选抵抗病原菌的效应基因提供了极大的便利 (Gunaratna and Jiang, 2013), 使得我们能够快速锁定关键的免疫防御基因, 为昆虫的先天免疫, 乃至高通量筛选基于免疫系统的生物防治靶标提供了平台。

化学农药发展到 20 世纪 60 年代, “农药公害”问题日趋严重, 使农药发展发生了转折。此后, 人们开始致力于研究和开发用于防治害虫的生物农药 (王正平和叶贤富, 2002; 邱德文, 2013)。当前, 虽然生物农药展示了良好的应用

前景,但由于受到防治效率和成本的影响,其使用范围和程度均受到限制(罗敏等,2003)。生物农药的作用机制比较复杂,其中包括害虫对生物农药所引起的免疫防御反应。前期的研究发现,注射黄蜂毒蛋白后,鳞翅目害虫甘蓝夜蛾 *Mamestra brassicae* 对真菌农药球孢白僵菌以及细菌农药苏云金芽孢杆菌 *Bacillus thuringiensis* (Bt) 的敏感性均显著提高(Richards and Paulina, 2010; Richards *et al.*, 2011)。进一步研究发现黄蜂毒蛋白提高生物农药杀虫效率的机制是通过抑制昆虫血细胞介导的免疫防御反应(Richards *et al.*, 2013)。Broderick 等(2010)的研究也发现 Bt 感染会激活舞毒蛾 *Lymantria dispar* 幼虫的细胞免疫防御,利用化学药品干扰鳞翅目昆虫的先天免疫系统,能够影响 Bt 的杀虫效率。此外,前人的研究表明化学农药也能够显著干扰昆虫的免疫防御体系,提高其对疾病的易感性(James and Xu, 2012)。因此,对昆虫免疫系统的深入研究将有助于提高农药的控害效率,特别是生物农药的开发与利用。

基于免疫防御在害虫治理中的潜力,Bulmer 等(2009)提出通过锚定昆虫免疫系统中的抗菌效应因子来作为一种新的害虫防控策略。他们的研究发现蚂蚁的革兰氏阴性细菌结合蛋白(Gram negative bacteria binding protein 2, GNBP-2)具有 β -(1,3)-葡萄糖苷酶活性,能够识别病原体的感染并激发宿主的免疫防御反应。蚂蚁把该蛋白分泌到其巢穴的建筑物材料中,当病原菌侵染时,便能及时剪切和释放病原组分,激活蚂蚁的抗菌防御系统。该团队通过设计一个小分子拟糖物(Glycomimetic)去阻断蚂蚁的免疫识别蛋白 tGNBP-2,从而使蚂蚁受到特异性或者条件致病性病原菌感染而死亡的方法来防治昆虫。他们提出了一个无毒、廉价、有效的新的害虫防治方法,丰富了害虫可持续控制的理论和技术。随着“i5k”计划的成功实施,将使我们对昆虫免疫基因有更加丰富全面的认识,对昆虫免疫防御机制有更加深刻的理解,从而更好的从基因组水平去大范围搜索可以用于害虫治理的免疫防御靶标,促进生物农药的开发利用和害虫的

综合防治。

总之,昆虫免疫防御的研究对我们深入了解昆虫是如何对抗病原菌的侵染以及先天免疫系统的本质具有深远的意义(Welchman *et al.*, 2009)。对昆虫免疫系统的研究不仅有助于揭示昆虫免疫机制的形成及其进化,同时对于寻求害虫治理的新思路和新技术具有重要的意义,可以预见,伴随着昆虫基因组研究的日益深入,昆虫免疫防御机制将得到更深的阐释,利用昆虫免疫学的理论和技术来防治害虫将成为害虫可持续控制研究的一个重要方向。

4 昆虫抗药性的分子机理

昆虫的抗药性问题一直是困扰农业、林业、卫生等领域的重要难题。根据密歇根州立大学的 Arthropod Pesticide Resistance Database (APRD) (<http://www.pesticideresistance.com>) 的统计数据,目前已有 21 个目、586 种昆虫对各种杀虫剂产生了不同程度的抗药性;到 2014 年底,小菜蛾已经对 92 种杀虫剂产生了不同程度的抗药性,棉铃虫和甜菜夜蛾也分别对 48 种和 40 种杀虫剂产生了抗性。近年来,随着越来越多昆虫基因组的研究和破译,对昆虫抗药性的研究也逐渐从生理生化水平发展到了分子水平。

对昆虫中重要代谢解毒酶,包括细胞色素 P450s 酶系(Cytochrome P450)、谷胱甘肽 S-转移酶系(Glutathione S-transferases, GSTs)和羧酸酯酶系(Carboxylesterases, CarEs)的分子水平研究主要集中在酶表达量变化、基因结构变化以及多重机制的共同作用。近年来还发现,ABC 转运蛋白(ABC-transporters)是继三大解毒酶系后又一类参与解毒作用的重要蛋白家族,与节肢动物对杀虫剂的抗药性密切相关(戚伟平等, 2014)。但害虫的抗药性水平多为其体内多个解毒代谢基因的综合表现,而先前的抗性研究受制于基因序列的获得,仅着眼于一个基因或几个基因的研究,随着昆虫基因组学研究的不断开展,使得我们有可能对所有解毒代谢相关基因展开系统分析。基于昆虫基因组数据,研究人员已对

多种昆虫分析了这些解毒蛋白家族所包含的基因数量 (表 2), 为昆虫解毒代谢的深入研究提供了重要的信息资源。

昆虫对杀虫剂的解毒主要包括基因拷贝数增加和基因的上调表达两种机制, 从而导致酶表达量的增加, 对杀虫剂的解毒作用增强 (邱星辉, 2014)。如细胞色素 P450s 在桃蚜 *Myzus persicae* 对新烟碱类药剂的代谢解毒中起重要作用, 抗性品系中表达量是敏感品系的 22 倍, 主要是通过基因扩增实现的 (Puinean *et al.*, 2010)。基因芯片分析发现, 编码草地贪夜蛾羧酸酯酶的两个基因在毒死蜱抗性品系中过量表达, 与 E4 序列相似性极高的基因在抗性中表达量是敏感品系的 21 倍 (Carvalho *et al.*, 2013)。以全基因组芯片为基础的转录水平分析也发现, *CYP6M7* 也和非洲催命按蚊 *Anopheles funestus* 的拟除虫菊酯抗性相关 (Riveron *et al.*, 2014)。

昆虫的靶标抗性就是昆虫对杀虫剂抗性发

展的主要抗性分子机理之一。刘莹等 (2012) 从昆虫转录组中分析了乙酰胆碱酯酶、乙酰胆碱受体、钠离子通道、 γ -氨基丁酸受体和鱼尼丁受体 5 个杀虫剂靶标基因在 5 种鳞翅目昆虫中的数量。Shang 等 (2014) 的研究发现棉蚜 *Aphis gossypii* 可能是由于其乙酰胆碱酯酶 (AChE) 发生多个点突变使其对药物的敏感度降低, 研究发现毒扁豆碱、氧化乐果和马拉氧磷对抗性品系的 *Ace1* 和 *Ace2* 基因的体外表达产物的抑制性显著降低于敏感品系, 对 *Ace2* 的效果更明显, 同时发现 *Ace2* 在抗性品系中的拷贝数高于敏感品系, 而且在两种品系中, *Ace2* 的拷贝数都显著高于 *Ace1*, 表明 *Ace2* 的突变和基因扩增是介导棉蚜对杀虫剂抗性的主要原因。Wang 等 (2013) 的研究发现由于玉米根萤叶甲的 γ -氨基丁酸 (GABA) 受体发生了一个氨基酸替换 (Ala-Ser) 介导了其对抗戊二烯类杀虫剂的抗药性产生, 而此氨基酸的替换是由于 GABA 受体

表 2 不同昆虫基因组中解毒代谢相关基因家族的基因数量

Table 2 Family-specific number of the metabolic detoxification genes identified from the genomics of different insect species

物种 Species	解毒代谢相关基因家族的基因数量 Family-specific number of the metabolic detoxification genes			
	GSTs	CarEs	P450s	ABC-transporter
黑腹果蝇 <i>Drosophila melanogaster</i>	37 (Yu <i>et al.</i> , 2008)	35 (Oakeshot, 2005)	90 (艾均文等, 2011)	56 (Dean <i>et al.</i> , 2001)
冈比亚按蚊 <i>Anopheles gambiae</i>	32 (Yu <i>et al.</i> , 2008)	51 (Ranson, 2002)	112 (艾均文等, 2011)	52 (Roth <i>et al.</i> , 2003)
赤拟谷盗 <i>Tribolium castaneum</i>	33 (Friedman, 2011)	49 (Richards <i>et al.</i> , 2008)	144 (艾均文等, 2011)	73 (Broehan <i>et al.</i> , 2013)
家蚕 <i>Bombyx mori</i>	21 (Yu <i>et al.</i> , 2008)	76 (Yu <i>et al.</i> , 2009)	84 (Ai <i>et al.</i> , 2011)	51 (Liu <i>et al.</i> , 2011)
意蜂 <i>Apis mellifera</i>	11 (Yu <i>et al.</i> , 2008)	24 (Claudianos <i>et al.</i> , 2006)	48 (艾均文等, 2011)	41 (Liu <i>et al.</i> , 2011)
小菜蛾 <i>Plutella xylostella</i>	22 (You <i>et al.</i> , unpublished)	64 (Xie <i>et al.</i> , unpublished)	90 (Yu <i>et al.</i> , unpublished)	100 (You <i>et al.</i> , 2013)

中的非同义点突变产生,即 GABA 受体 cDNA 中的第 838 位发生突变 (G-T)。近年来,越来越多昆虫的 GABA 受体被报道,白背飞虱 *Sogatella furcifera* (Nakao *et al.*, 2010) 和二斑叶螨 *Tetranychus urticae* (Dermauw *et al.*, 2012) 等均有 GABA 受体突变与抗药性产生的关联的研究。

伴随着各种组学的研究,使得杀虫剂新靶标或者抗性相关基因的筛选更加高效。Ellango 等 (2014) 从小菜蛾体内鉴定了 8 个 micro RNAs (miRNA) 并预测可能的靶标,认为抗性的发展可能与体内基因沉默有关。基于 *de novo* 测序的龟纹瓢虫 *Propylaea japonica* 转录组分析得到敏感品系和抗性品系的数字基因表达有着显著差异,有助于深入挖掘其杀虫剂抗性机理 (Tang *et al.*, 2014)。基因组芯片也分析了果蝇对 DDT 的高抗品系 (91-R)、中抗品系 (Wisconsin) 和敏感品系 (Canton-S),发现一个糖皮质激素受体类转录因子结合模体 (Glucocorticoid receptor (GR)-like putative transcription factor binding motif, TFBM) 在抗性品系中有着差异转录 (Qiu *et al.*, 2013)。

由于解毒代谢家族功能的多样性和复杂性,对其基因表达调控机制、多基因和多分子机制协同作用的研究比较困难。随着分子生物学研究水平的提高和 RNA 干扰技术的成熟以及多种昆虫基因组、转录组测序的完成,有可能获得所有的解毒代谢相关基因和靶标基因的序列信息,越来越多的解毒基因功能也将得到验证,这些都将为更系统更全面地研究昆虫抗药性分子机制提供基础。

5 基于基因组学的害虫治理

5.1 景观遗传学与害虫治理

昆虫在农田生态系统的迁移和扩散受到各种不同景观要素的显著影响,景观要素可以通过干扰害虫迁移、死亡率和生殖率直接影响害虫种群密度,也可以通过对天敌影响间接地影响种群的动态 (Veres *et al.*, 2013)。因此,就害虫治理而言,以景观为单元要比以同类作物的田块为

单元更加合适,有利于更好地了解地理解景观区域内不同斑块 (如作物与非作物) 之间、不同要素 (如“作物-害虫-天敌”) 之间的相互作用,分析不同斑块类型及其连通关系对物质、能量和信息转移过程和变化规律的影响,揭示害虫在较大尺度和异质性空间内的灾变机理,为害虫的区域性灾变规律与生态调控提供新的研究思路及技术手段 (郑云开和尤民生, 2009)。

景观遗传学 (Landscape genetics) 作为一门探究景观异质性与种群遗传结构之间相互关系的新兴学科,在短短的数年中表现出强大的科学生命力和应用价值 (Manel and Holderegger, 2013)。近年来的研究表明,景观格局对昆虫种群的遗传变异具有重要作用,人类活动、自然干扰导致的景观格局改变,如生境破碎化,亦影响着物种的遗传格局及其进化过程 (Eckert *et al.*, 2008; Spear *et al.*, 2010; He and Hubbell, 2011); 景观特征会影响昆虫的生理状态、行为响应 (Östman *et al.*, 2001) 及其在不同生境斑块之间的迁移活动 (Cronin, 2007; Spear *et al.*, 2010), 进而影响昆虫的适应与遗传特性。例如,关于二化螟不同地理种群在基因组水平上的变异研究取得了明显进展:薛进等 (2007) 采用随机扩增多态性 DNA (RAPD) 的手段,对我国 5 个二化螟地理种群进行了比较分析,发现 5 个地理种群表现出较高的遗传变异水平,其中广西省全州市多态位点百分率最高 (52.73%), 吉林省柳河县多态位点百分率最低 (34.55%) 杨凤霞等 (2010) 采用线粒体 *COII* 基因和核糖体 *ITS* 基因测序的手段,对我国 14 个地理种群进行了比较分析,发现江西南都种群与其他 13 个种群的核苷酸差异相对较大;孟祥锋 (2008) 利用 Ishiguro 和 Tsuchida (2006) 筛选的 4 个微卫星位点 (Microsatellite loci) 并结合 4 个线粒体 DNA (mtDNA) 基因片段分子标记手段,对采自我国 18 个不同地区的二化螟种群进行了比较研究,分析显示我国的二化螟种群间的基因交流水平较低;李金玉 (2011) 以 16 对二化螟微卫星引物为基础,采用扩增微卫星位点分子标记手段,应用景观遗传学的原理和方法,研究了农业

景观特征与害虫群体遗传结构的关系, 结果表明海拔高度和土地利用状况是影响二化螟群体基因交流和遗传结构的主要因素, 为在景观水平上二化螟的生态治理与持续控制提供理论基础, 同时也可以为农业景观的格局规划和过程管理提供科学依据。

最近几年, 基因组学研究的迅速发展, 为景观遗传学的研究注入了新的动力, 从而提出了景观基因组学 (Landscape genomics) 的概念和方法, 即把基因组学、种群遗传学、空间分析方法 (Spatial analysis method, SAM) 的研究与景观要素结合起来, 考察和分析景观要素对物种基因组的结构和变异的影响, 提高了人们对生物与环境条件相互适应及进化的认知和理解水平 (Pariset *et al.*, 2009; Vincent *et al.*, 2013)。目前, 有关景观基因组学在昆虫的研究案例还比较少见 (Medley *et al.*, 2014), 但我们可以预见, 把景观要素嵌入基因组的结构、变异以及基因功能的研究, 不仅有助于揭示昆虫种群适应进化的分子和遗传机理, 而且有助于优化害虫治理的对策和措施。

5.2 分子鉴定与物种鉴定及食物网重构

DNA 条形码技术是采用一段标准化的 DNA 序列用于快速准确的物种鉴定 (Floyd *et al.*, 2002; Hebert *et al.*, 2003; Hebert and Gregory, 2005)。在动物 DNA 条形码技术中最为有效的是采用约 650 bp 左右的细胞色素氧化酶 I (Cytochrome oxidase subunit I, COXI) 基因片段 (Hebert *et al.*, 2003; Marshall, 2005; Valentini *et al.*, 2009)。Hebert 等 (2003) 认为 COXI 能够有效用于动物物种鉴定的原因是: (1) COXI 在所有的动物类群中有较高的进化速率; (2) 种内的遗传变异受到限制, 部分原因可能是由于与受核基因组介导的选择清除作用的影响。随着测序技术的发展, 公共数据平台提供了大量的 DNA 条形码, 如在 BOLD (http://www.boldsystems.org/index.php/IDS_IdentificationRequest) 这样的网上检索系统, 研究者只需要上传所要求的序列就可以得到相应的物种信息, 相比基于表型鉴定

的传统技术, 节省了大量的时间和人力。

DNA 条形码技术目前在分析环境 DNA (Environmental DNA, eDNA) 上有广泛的应用 (Taberlet *et al.*, 2012; Bohmann *et al.*, 2014), 如基于粪便等环境 DNA 研究动物的食性以及其在生态系统中的作用 (Deagle *et al.*, 2007, 2009; Newmaster *et al.*, 2013)。这一技术不仅可以定性或定量分析食物网内不同物种之间的关系, 而且可以分析食物网在不同时空尺度下的变化 (Smith *et al.*, 2011; Bohmann *et al.*, 2014)。分子生态学杂志在 2012 年 4 月出版了专刊, 对该技术的研究和分析方法以及不同应用领域 (如动植物生物多样性的研究) 进行了广泛的讨论 (Yoccoz, 2012)。DNA 条形码技术用于研究不同昆虫物种之间的营养关系, 丰富了昆虫群落生态学的研究方法。传统的研究方法难以真正准确地了解寄主昆虫和寄生蜂之间的营养关系, 特别是对于个体微小的寄生蜂, Smith 等 (2011) 采用 DNA 条形码技术研究以云杉卷叶蛾 *Choristoneura murinana* 为中心及与其相关联的 100 多种天敌所构成的食物网, 发现这个网络比基于传统方法鉴定的更为复杂。Garipey 等 (2013) 在研究昆虫与寄生蜂之间的营养关系时, 采用 DNA 条形码可以对空卵壳鉴定到种的水平, 还可以用于大田样本中重寄生现象的检测。Lundgren 和 Fergen (2014) 采用分子标记的方法分析了捕食者的丰度以及群落的多样性和均匀度对于低营养级生物丰度的影响, 通过计算 16 个玉米田块土壤节肢动物群落捕食者的数量和多样性, 以及基于捕食者肠道内残留的玉米根萤叶甲的 DNA 量化捕食者与猎物之间的关系; 结果表明, 捕食者的丰富度和多样性与营养关系 (基于捕食者肠道 DNA 检测猎物是否被捕食) 之间呈正相关, 咀嚼式口器捕食者的多样性和均匀度与猎物之间呈极显著的营养关系, 刺吸式口器的捕食者与猎物之间与则没有这种关系。这个研究表明应该考虑整个捕食者群落而不是单一或者某一个类群的捕食者在害虫种群控制的作用, 同时也表明在农田生态系统中保护捕食者的丰度和多样性对于害虫持续控制的重要性。

DNA 分子标记技术同时也可以用于分析生境等因素对于营养关系的影响。Derocles 等 (2014) 采用 16S rRNA 基因量化作物和非作物生境寄主与拟寄生蜂之间的相互作用, 研究人员从法国西部的农耕地和非农耕地采集了大量的蚜虫样本, 并基于遗传标记的数据分析作物和非作物生境对于蚜虫与拟寄生蜂之间的食物网络关系的影响, 发现蚜虫与拟寄生蜂的关系受生境的影响显著, 而田块边缘作为生物防控因子 (如寄生性天敌) “库源” 的传统观念受到了质疑, 需要从更大时空尺度的作物与非作物生境进行研究和证实。Schmidt 等 (2014) 通过对南瓜缘蝽 *Anasa tristis* 天敌肠道内南瓜缘蝽 DNA 的鉴定, 分析捕食者与猎物之间营养关系对有机农田管理的响应, 在 640 个捕食者的肠道内容物中, 共有 11% 的个体被检测到含有南瓜缘蝽的 DNA, 但这些捕食者功能团对于南瓜缘蝽的捕食作用随着季节进行变化。

测序技术的发展加快了 DNA 条形码/分子鉴定等方法在农田生态系统中物种鉴定、食物网重构等方面的研究, 同时也提高了群落生态学和保护生物学等学科的理论和技术水平, 为保护生物多样性和强化农田生态系统保益控害服务功能提供了新的研究思路和技术手段。这个领域的研究目前尚处于起步阶段, 相关的理论和技术都有待进一步深入探讨和提升。

5.3 RNA 干扰技术与害虫治理

RNA 干扰 (RNA interference, RNAi) 指的是双链 RNA (Double strand RNA) 介导的基因沉默。RNAi 是基因功能研究上的重大技术突破, 特别是对于非模式生物以及缺少参考基因组的物种基因功能的研究 (Swevers and Smagghe, 2012)。毫无疑问, 这一技术在农业害虫治理方面有巨大的应用潜力。

RNAi 技术目前在鞘翅目昆虫中的应用效果优于其他昆虫类群, 如赤拟谷盗 (Tan and Palli, 2008) 和玉米根萤叶甲 (Baum *et al.*, 2007), 而在其他类群中, RNAi 技术则没有明显稳定的效果, 如鳞翅目昆虫 (Terenius *et al.*, 2011)。

Terenius 等 (2011) 总结了超过 150 个作用于鳞翅目昆虫的 RNAi 后认为 RNAi 在鳞翅目昆虫的效率受物种、组织、龄期等因素的影响。目前的研究结果表明, RNAi 技术在鳞翅目昆虫中应用有以下几个特点: (1) 表皮组织对 RNAi 有阻隔作用; (2) 对先天免疫途径的干扰作用优于对其他途径的干扰效果; (3) 通过注射 dsRNA 能够在天蚕蛾科中起到很好的效果 (Terenius *et al.*, 2011)。除了类群上的差异之外, 影响 RNAi 效率还包括如 RNAi 在体内的传递系统, 以及 dsRNA 和 siRNA 相关酶的降解等因素 (Swevers and Smagghe, 2012)。

目前, 昆虫摄取 dsRNA 的方式包括显微注射、浸泡、喂食、转基因昆虫等几种方式 (Yang *et al.*, 2011), 显然通过喷洒 dsRNA 和种植能够诱导 RNAi 植株的喂食方式最适合在田间害虫防治中应用。Mao 等 (2007) 在转基因植物中表达发夹结构的 RNA 介导 RNAi, 沉默了昆虫体内对抗植物棉子酚的 *CYP6AE14* 基因 (编码细胞色素 P450 蛋白) 的表达, 从而达到防控棉铃虫的目的。许多研究表明, 使用不同杀虫机理的两种毒杀方式可以延缓害虫对于抗性的产生, 如 Gordon 和 Waterhouse (2007) 提出可以将迟效的 RNAi 技术和速效的 Bt 毒蛋白一起用于害虫防治。由于两者的毒杀模式不相同, 因此可以延长毒杀作用的时间, 延缓害虫抗性的产生 (Zhu *et al.*, 2011), 同时也降低了使用抗性缓冲 “避难所” 的需要 (Swevers and Smagghe, 2012)。目前, 许多国家在转基因作物问题上仍然存在分歧, 因而采用喷洒人工合成的 dsRNA 或含有 dsRNA 的灭活的发酵工程菌是另一种比较好的手段 (Zhu *et al.*, 2011; Swevers and Smagghe, 2012)。Gong 等 (2013) 采用化学合成小菜蛾乙酰胆碱酯酶对应的 siRNA 用于室内和田间对小菜蛾毒杀活性的测定, 研究结果表明小菜蛾 *Si-ace2 001* 在对小菜蛾防治有比较好的效果, 也暗示可以通过以 RNAi 技术为基础研制生物农药用于害虫的防治。

关于 RNAi 技术在害虫治理的研究与应用, 不仅要考虑其防控效能, 而且要同时考虑其生态

风险评估, 如 RNAi 是否会影响非靶标昆虫以及是否会受突变和多态性的影响等, 都需要建立完整的评估体系 (Auer and Frederick, 2009), 以期促进作物安全生产, 避免或减少生态风险, 保障人类健康。

5.4 昆虫转基因技术

自 1982 年, 首例转基因果蝇出现后, 昆虫转基因技术受到广泛的关注 (Rubin and Spradling, 1982)。该技术将遗传物质从其他物种转移到某种昆虫中来, 在害虫防控、益虫利用和昆虫生物反应器开发等方面具有广泛的应用前景。此外, 后基因组时代对于基因功能广泛而深入的研究也使得昆虫转基因技术的地位愈发重要。

转座子介导的昆虫转基因, 除了最早被发现并在黑腹果蝇中得到广泛使用的 P 因子之外 (Rubin and Spradling, 1982), 目前, 在果蝇外的昆虫中应用的四类转座子包括: *mos1* (Hartl, 2001), *Minos* (Pavlopoulos *et al.*, 2004), *Hermes* (Jasinskiene *et al.*, 2000) 和 *piggyBac* (Fraser *et al.*, 1995)。其中 *piggyBac* 转座子来源于鳞翅目昆虫的粉蚊夜蛾 *Trichoplusia ni*, 是长 2 472 bp 的自主可移动因子, 包含转座酶的开放阅读框 (1 785 bp), 以及末端 13 bp 的反向重复序列 5'CCC...GGG 3', 其间还不对称的分布着 19 bp 的中间重复序列 (Cary, 1989)。Piggybac 转座系统可携带的外源基因大小受限较小, 而且其转座受物种和生殖种系的限制较小, 从单细胞生物到哺乳类都有应用成功的先例, 是目前应用范围最为广泛的转座子载体。至今 *piggyBac* 转座子载体已经被成功用于转化双翅目、鳞翅目、鞘翅目和膜翅目等多种昆虫 (Handler, 2002)。虽然不同的转座子系统仍致力于昆虫基因组的研究, 但转座子的应用仍受到一定的限制: 转座子的整合是随机的, 转化效率低, 整合后的序列不稳定, 以及容载量相对有限 (Malcolm and Fraser, 2012)。

整合酶系统为转基因工程提供了很多优势, 它无需转座子, 可定点整合在染色体特定的位点

上, 整合效率以及承载量都优于转座子系统。目前常用的整合酶包括: 依赖于酪氨酸的整合酶 (如 cre 和 FLP 整合酶等) (Jasinskiene, 2003; Morris, 1991); 丝氨酸催化的整合酶 (ϕ C31); 归巢内切酶 (Homing endonucleases) (Stoddard, 2005); 锌指核酸酶 (Zinc-finger nucleases) (Klug, 2010); 类转录激活因子核酸酶 (Transcription activator-like effector nuclease, TALENs) (Boch *et al.*, 2009; Moscou and Bogdanove, 2009)。英国帝国理工学院的 Windbichler 等 (2011), 成功的应用归巢内切酶 I-SceI, 在精巢特异性启动子的驱动下雄性蚊子会表达 I-SceI, 并且能够把 I-SceI 复制到不含该内切酶但含有该归巢内切酶识别位点的雄性个体中, 并遗传给下一代, 使后代的所有雄蚊都携带该基因。利用这种扩张机制, Windbichler 等 (2011) 向实验室培养的蚊子群体中投放少量携带该基因的蚊子, 经过 12 代蚊子的繁殖, 整个蚊子群体一半个体携带该基因, 于是可以将防控疟疾的基因与该基因绑定, 释放少量的转基因昆虫到野外, 防疟疾的基因随着归巢内切酶的入侵在蚊子种群中大量扩散, 该研究结果推动了用转基因蚊子防治疟疾的研究进展。

最新提出的 CRISPR/Cas RNA 靶向编辑 (Clustered regularly interspaced short palindromic repeats/Cas9, CRISPR/Cas9) 技术 (Hwang *et al.*, 2013), 可简单低耗的实现基因组的定点编辑。同样可对基因组进行定点编辑的 ZFNs 和 TALENs 技术, 在构建上就显得耗时且困难。CRISPR/Cas 系统只需要能对基因组进行切割的 Cas9 蛋白以及含有 PAM 结构的 23 bp 的靶向序列结合 tracrRNA 形成的 gRNA (gRNA), 在 gRNA 的导向下 Cas9-gRNA 复合体能高效的切割基因组 (Jiang *et al.*, 2013), 造成基因组的双链断裂。DNA 双链断裂主要通过两种方式进行修复: 非同源末端连接 (NHEJ) 和同源重组 (HR), 因此在 HR 修复的过程中可以将带有断裂口两端同源序列的遗传物质整合到基因中去, 这就是 CRISPR/Cas 引导的基因敲入。目前, 已在线虫、斑马鱼、老鼠、果蝇等物种中成功的实

现 CRISPR/Cas 引导的基因定点敲入 (Dickinson *et al.*, 2013; Auer *et al.*, 2014; Ma *et al.*, 2014; Xue *et al.*, 2014)。可以预见, 这项用于基因编辑的新技术结合一些性别决定因子如 *dsx* 基因以及生长发育相关因子等, 将害虫的性别调控、发育调控和遗传转化以及重要基因的功能研究提供强有力的工具。

6 发展方向

综上所述, 新一代测序技术和生物信息学分析的发展加速了昆虫基因组的研究 (图 1), 这其中包括已经完成的与农、林相关的重要昆虫基因组 (表 1)。昆虫基因组的研究不仅成功解决了许多受到广泛关注的种群遗传学和进化生态学热点问题, 与此同时, 结合各种组学的研究结果和数据, 也使我们对于重要农业害虫的适应性和致害性变异有了更新更全面的认识, 为害虫治理提供了新的思路和研究方向 (He *et al.*, 2012; You *et al.*, 2013; Xia *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2014)。

然而, 我国昆虫基因组学的研究仍处于数据积累阶段, 虽然已经完成并发布了几种重要昆虫 (如家蚕、小菜蛾、飞蝗、榕小蜂等) 基因组, 筛选鉴定了大量功能基因, 但对其调控机制和调控网络的研究则较少。例如, 昆虫-植物间的生态关系是复杂、动态的, 且每个互作系统都有其独有的特性; 昆虫可通过调整学习行为或基因突变完成短期或长期的改变, 而植物的改变则取决于短期、中期、长期三个阶段, 分别涉及诱导防御、表观遗传变异, 以及基因突变 (Bruce, 2014); 虽然各项新技术陆续应用到复杂的生态网络中, 如单核苷酸多态性 (Single nucleotide polymorphisms, SNPs)、分子标记 (Genetic mapping) (Schneeberger *et al.*, 2009)、数量性状基因位点分析 (Quantitative trait loci, QTL) (Smith and Clement, 2012) 等, 实现了功能基因的快速定位和筛选, 但功能基因之间的调控网络仍不清晰。因此, 伴随基因组时代的到来和各种新生学科 (如整合生物学) 的应运而生, 将为我们更好

地研究和理解“植物-害虫-天敌”及其与微生物之间的协同进化, 阐明昆虫免疫和抗药性的分子机理, 提出并实施更合理有效的害虫治理新思路 and 新技术提供了良好机遇。

未来的研究方向应该从基础和应用两个方面进行。在基础研究方面, 需要进一步开展我国重要害虫和资源昆虫 (包括天敌昆虫) 的基因组测序和解析, 为阐明害虫猖獗为害机理以及充分利用资源昆虫提供基础数据; 在开展基因组研究的同时, 通过基因克隆、干扰、敲除或转基因等技术手段, 系统深入地研究重要基因的功能, 以期揭示昆虫进化与系统发育的关系, 明确重要昆虫类群的起源与演化过程; 深入研究生态网络间的协同互作机理, 例如植物-昆虫-微生物间的互作关系, 植物-害虫-天敌之间的信号传导机制与内在联系等, 为害虫可持续控制提供新原理与方法; 系统研究害虫生态适应策略, 揭示害虫的分子免疫机理、抗药性机理、以及在全球变化下生境适应变化等, 寻找害虫可持续控制的新靶标; 探讨昆虫生长、发育、变态、生殖、迁飞等重要生命活动的分子调控机理, 阐明害虫暴发的内在机制等。在应用研究方面, 则涉及培育转基因抗虫植物、研发新型杀虫剂、应用转基因昆虫技术 (基因干扰、敲除与编辑等), 以及开展遗传调控、行为调控、生境调控、抗性治理等方面的技术研发, 以寻求和创新害虫生态治理和可持续控制的策略和手段。

参考文献 (References)

- Adams MD, Celniker SE, Holt RA, *et al.*, 2000. The genome sequence of *Drosophila melanogaster*. *Science*, 287(5461): 2185–2195.
- Ahn JE, Guarino LA, Zhu-Salzman K, 2010. Coordination of hepatocyte nuclear factor 4 and Sevenless-up controls insect counter-defense cathepsin B expression. *J. Biol. Chem.*, 285(9): 6573–6584.
- Ai JW, Xue H, He XJ, Meng FL, Zhu Y, Xiang ZH, 2011. Research advances in cytochrome P450 genes in the silkworm, *Bombyx mori*. *Acta Entomologica Sinica*, 54(8): 918–926. [艾均文, 薛宏, 何行健, 孟繁利, 朱勇, 向仲怀. 2011. 家蚕细胞色素 P450 基因的研究进展. 昆虫学报, 54(8): 918–926.]

- Ai JW, Zhu Y, Duan J, Yu QY, Zhang GJ, Wan F, Xiang ZH, 2011. Genome-wide analysis of cytochrome P450 monooxygenase genes in the silkworm, *Bombyx mori*. *Gene*, 480(1/2): 42–59.
- Ali JG, Agrawal AA, 2012. Specialist versus generalist insect herbivores and plant defense. *Trends Plant Sci.*, 17(5): 293–302.
- Anderson JT, Mitchell-Olds T, 2011. Ecological genetics and genomics of plant defences: evidence and approaches. *Funct. Ecol.*, 25(2): 312–324.
- Auer C, Frederick R, 2009. Crop improvement using small RNAs: applications and predictive ecological risk assessments. *Trends Biotechnol.*, 27(11): 644–651.
- Auer TO, Duroure K, De Cian A, Concordet JP, Del Bene F, 2014. Highly efficient CRISPR/Cas9-mediated knock-in in zebrafish by homology-independent DNA repair. *Genome Res.*, 24(1): 142–153.
- Barrett AJ, Kembhavi AA, Brown MA, Kirschke H, Knight CG, Tamai M, Hanada K, 1982. L-Trans-epoxysuccinylleucylamido (4-guanidino)butane (E-64) and its analogues as inhibitors of cysteine proteinases including cathepsins B, H and L. *Biochem. J.*, 201(1): 189–198.
- Baum JA, Bogaert T, Clinton W, Heck GR, Feldmann P, Ilagan O, Johnson S, Plaetinck G, Munyikwa T, Pleau M, 2007. Control of coleopteran insect pests through RNA interference. *Nat. Biotechnol.*, 25(11): 1322–1326.
- Boch J, Scholze H, Schornack S, Landgraf A, Hahn S, Kay S, Lahaye T, Nickstadt A, Bonas U, 2009. Breaking the code of DNA binding specificity of TAL-Type III effectors. *Science*, 326(5959): 1509–1512.
- Bohmann K, Evans A, Gilbert MTP, Carvalho GR, Creer S, Knapp M, Yu DW, de Bruyn M, 2014. Environmental DNA for wildlife biology and biodiversity monitoring. *Trends Ecol. Evol.*, 29(6): 358–367.
- Bonaventure G, 2014. Plants recognize herbivorous insects by complex signaling networks. *Ann. Plant Rev.*, 47: 1–36.
- Bos JIB, Prince D, Pitino M, Maffei ME, Win J, Hogenhout SA, 2010. A functional genomics approach identifies candidate effectors from the aphid species *Myzus persicae* (Green Peach Aphid). *PLoS Genet.*, 6(11): e10012166.
- Boulogne I, Petit P, Ozier-Lafontaine H, Desfontaines L, Loranger-Merciris G, 2012. Insecticidal and antifungal chemicals produced by plants: A review. *Enviro. Chem. Lett.*, 10(4): 325–347.
- Broderick NA, Raffa KF, Handelsman JB, 2010. Chemical modulators of the innate immune response alter gypsy moth larval susceptibility to *Bacillus thuringiensis*. *BMC Microbiol.*, DOI: 10.1186/1471-2180-1110-1129.
- Broehan G, Kroege T, Lorenzen M, Merzendorfer H, 2013. Functional analysis of the ATP-binding cassette (ABC) transporter gene family of *Tribolium castaneum*. *BMC Genomics*, 14: 6.
- Brown SJ, Brown D, 2012. Manduca Base. <http://www.agripestbase.org>.
- Bruce TJ, 2014. Interplay between insects and plants—dynamic and complex interactions that have coevolved over millions of years but act in milliseconds. *J. Exp. Bot.*, DOI:10.1093/jxb/eru391.
- Bruce TJ, Pickett JA, 2007. Plant defence signalling induced by biotic attacks. *Curr. Opin. Plant. Biol.*, 10(4): 387–392.
- Buchmann K, 2014. Evolution of innate immunity: clues from invertebrates via fish to mammals. *Front Immunol.*, DOI: 10.3389/fimmu.2014.00459.
- Bulmer MS, Bachelet I, Raman R, Rosengaus RB, Sasisekharan R, 2009. Targeting an antimicrobial effector function in insect immunity as a pest control strategy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106(31): 12652–12657.
- Carolan JC, Caragea D, Reardon KT, Mutti NS, Dittmer N, Pappan K, Cui F, Castaneto M, Poulain J, Dossat C, Tagu D, Reese JC, Reeck GR, Wilkinson TL, Edwards OR, 2011. Predicted effector molecules in the salivary secretome of the pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*): A dual transcriptomic/proteomic approach. *J. Proteome Res.*, 10(4): 1505–1518.
- Carvalho RA, Omoto C, Field LM, Williamson MS, Bass C, 2013. Investigating the molecular mechanisms of organophosphate and pyrethroid resistance in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*. *PLoS ONE*, 8(4): e62268.
- Cary LC, Goebel M, Corsaro BG, Wang HG, Rosen E, Fraser MJ, 1989. Transposon mutagenesis of baculoviruses: analysis of *Trichoplusia ni* transposon IFP2 insertions within the FP-locus of nuclear polyhedrosis viruses. *Virology*, 172(1): 156–169.
- Chambers MC, Schneider DS, 2012. Pioneering immunology: insect style. *Curr. Opin. Immunol.*, 24(1): 10–14.
- Chung SH, Rosa C, Scully ED, Peiffer M, Tooker JF, Hoover K, Luthe DS, Felton GW, 2013. Herbivore exploits orally secreted bacteria to suppress plant defenses. *P. Natl. Acad. Sci., USA*, 110(39): 15728–15733.
- Claudianos C, Ranson H, Johnson RM, Biswas S, Schuler MA, Berenbaum MR, Feyereisen R, Oakeshott JG, 2006. A deficit of detoxification enzymes: pesticide sensitivity and environmental response in the honeybee. *Insect Mol. Biol.*, 15(5): 615–636.
- Consales F, Schweizer F, Erb M, Gouhier-Darimont C, Bodenhausen N, Bruessow F, Sobhy I, Reymond P, 2012. Insect oral secretions suppress wound-induced responses in *Arabidopsis*.

- J. Exp. Bot.*, 63(2): 727–737.
- Cronin JT, 2007. From population sources to sieves: the matrix alters host-parasitoid source-sink structure. *Ecology*, 88(12): 2966–2976.
- Dawkar VV, Chikate YR, Gupta VS, Slade SE, Giri AP, 2011. Assimilatory potential of *Helicoverpa armigera* reared on host (chickpea) and nonhost (*Cassia tora*) diets. *J. Proteome Res.*, 10(11): 5128–5138.
- Deagle BE, Gales NJ, Evans K, Jarman SN, Robinson S, Trebilco R, Hindell MA, 2007. Studying seabird diet through genetic analysis of faeces: a case study on macaroni penguins (*Eudyptes chrysolophus*). *PLoS ONE*, 2(9): e831.
- Deagle BE, Kirkwood R, Jarman SN, 2009. Analysis of Australian fur seal diet by pyrosequencing prey DNA in faeces. *Mol. Ecol.*, 18(9): 2022–2038.
- Dean M, Hamon Y, Chimini G, 2001. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *J. Lipid Res.*, 42(7): 1007–1017.
- Dermauw W, Ilias A, Riga M, Tsagkarakou A, Grbic M, Tirry L, Van Van Leeuwen T, Vontas J, 2012. The cys-loop ligand-gated ion channel gene family of *Tetranychus urticae*: Implications for acaricide toxicology and a novel mutation associated with abamectin resistance. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 42(7): 455–465.
- Derocles SA, Le Ralec A, Besson MM, Maret M, Walton A, Evans DM, Plantegenest M, 2014. Molecular analysis reveals high compartmentalization in aphid–primary parasitoid networks and low parasitoid sharing between crop and noncrop habitats. *Mol. Ecol.*, 23(15): 3900–3911.
- Dicke M, van Loon JJA, Soler R, 2009. Chemical complexity of volatiles from plants induced by multiple attack. *Nat. Chem. Biol.*, 5(5): 317–324.
- Dickinson DJ, Ward JD, Reiner DJ, Goldstein B, 2013. Engineering the *Caenorhabditis elegans* genome using Cas9-triggered homologous recombination. *Nat. Methods*, 10(10): 1028–1034.
- Diezel C, von Dahl CC, Gaquerel E, Baldwin IT, 2009. Different Lepidopteran elicitors account for cross-talk in herbivory-induced phytohormone signaling. *Plant Physiol.*, 150(3): 1576–1586.
- Dunin-Horkawicz S, Kopec KO, Lupas AN, 2014. Prokaryotic ancestry of eukaryotic protein networks mediating innate immunity and apoptosis. *J. Mol. Biol.*, 426(7): 1568–1582.
- Duvaux L, Geissmann Q, Gharbi K, Zhou JJ, Ferrari J, Smadja CM, Butlin RK, 2014. Dynamics of copy number variation in host races of the pea aphid. *Mol. Biol. Evol.*, <http://dx.doi.org/10.1093/molbev/msu266>.
- Eckert CG, Samis KE, Loughheed SC, 2008. Genetic variation across species' geographical ranges: the central–marginal hypothesis and beyond. *Mol. Ecol.*, 17(5): 1170–1188.
- Ellango R, Asokan R, Mahmood R, Ramamurthy VV, Kumar NKK, 2014. Isolation of new micro RNAs from the diamondback moth (Lepidoptera: Yponomeutidae) genome by a computational method. *Fla. Entomol.*, 97(3): 877–885.
- Evans JD, Aronstein K, Chen YP, Hetru C, Imler JL, Jiang H, Kanost M, Thompson GJ, Zou Z, Hultmark D, 2006. Immune pathways and defence mechanisms in honey bees *Apis mellifera*. *Insect Mol. Biol.*, 15(5): 645–656.
- Evans JD, Brown SJ, Brown KJ, Robinson G, Richards S, Lawson D, Elisk C, Coddington J, 2013. The i5K Initiative: advancing arthropod genomics for knowledge, human health, agriculture, and the environment. *J. Hered.*, 104(5): 595–600.
- Evans JD, Schwarz RS, 2011. Bees brought to their knees: microbes affecting honey bee health. *Trends Microbiol.*, 19(12): 614–620.
- Felton GW, Chung SH, Hernandez MGE, Louis J, Peiffer M, Tian DL, 2014. Herbivore oral secretions are the first line of protection against plant-induced defences. *Ann. Plant Rev.*, 47: 37–76.
- Floyd R, Abebe E, Papert A, Blaxter M, 2002. Molecular barcodes for soil nematode identification. *Mol. Ecol.*, 11(4): 839–850.
- Frago E, Dicke M, Godfray HCJ, 2012. Insect symbionts as hidden players in insect-plant interactions. *Trends Ecol. Evol.*, 27(12): 705–711.
- Franc NC, White K, 2000. Innate recognition systems in insect immunity and development: new approaches in *Drosophila*. *Microbes Infect.*, 2(3): 243–250.
- Fraser MJ, Cary L, Boonvisudhi K, Wang HGH, 1995. Assay for movement of Lepidopteran transposon Ifp2 in insect cells using a Baculovirus genome as a target DNA. *Virology*, 211(2): 397–407.
- Friedman R, 2011. Genomic organization of the glutathione S-transferase family in insects. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 61(3): 924–932.
- Garipey TD, Haye T, Zhang J, 2013. A molecular diagnostic tool for the preliminary assessment of host–parasitoid associations in biological control programmes for a new invasive pest. *Mol. Ecol.*, 23(15): 3912–3924.
- Gatehouse JA, 2011. Prospects for using proteinase inhibitors to protect transgenic plants against attack by herbivorous insects. *Curr. Protein Pept. Sci.*, 12(5): 409–416.
- Geiselhardt S, Yoneya K, Blenn B, Drechsler N, Gershenzon J,

- Kunze R, Hilker M, 2013. Egg laying of cabbage white butterfly (*Pieris brassicae*) on *Arabidopsis thaliana* affects subsequent performance of the larvae. *PLoS ONE*, 8(3): e59661.
- Gong L, Chen Y, Hu Z, Hu M, 2013. Testing insecticidal activity of novel chemically synthesized siRNA against *Plutella xylostella* under laboratory and field conditions. *PLoS ONE*, 8(5): e62990.
- Gordon KH, Waterhouse PM, 2007. RNAi for insect-proof plants. *Nat. Biotechnol.*, 25(11): 1231–1232.
- Gunaratna RT, Jiang HB, 2013. A comprehensive analysis of the *Manduca sexta* immunotranscriptome. *Dev. Comp. Immuno.*, 39(4): 388–398.
- Guo F, Lei J, Sun Y, Chi YH, Ge F, Patil BS, Koiwa H, Zeng RS, Zhu-Salzman K, 2012. Antagonistic regulation, yet synergistic defense: effect of bergapten and protease inhibitor on development of cowpea bruchid *Callosobruchus maculatus*. *PLoS ONE*, 7(8): e41877.
- Guo W, Wang XH, Ma ZY, Xue L, Han JY, Yu D, Kang L, 2011. CSP and takeout genes modulate the switch between attraction and repulsion during behavioral phase change in the migratory locust. *PLoS Genet.*, 7(2): 1–13.
- Han JH, Zhang HY, Min GS, Kemler D, Hashimoto C, 2000. A novel *Drosophila* serpin that inhibits serine proteases. *FEBS Lett.*, 468(2/3): 194–198.
- Handler AM, 2002. Use of the piggyBac transposon for germ-line transformation of insects. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 32(10): 1211–1220.
- Hartl D, 2001. Discovery of the transposable element mariner. *Genetics*, 157(2): 471–476.
- He F, Hubbell SP, 2011. Species-area relationships always overestimate extinction rates from habitat loss. *Nature*, 473(7347): 368–371.
- He WY, You MS, Vasseur L, Yang G, Xie M, Cui K, Bai JL, Liu CH, Li XJ, Xu XF, Huang SG, 2012. Developmental and insecticide-resistant insights from the de novo assembled transcriptome of the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Genomics*, 99(3): 169–177.
- Hebert PD, Gregory TR, 2005. The promise of DNA barcoding for taxonomy. *Syst. Biol.*, 54(5): 852–859.
- Hebert PD, Ratnasingham S, de Waard JR, 2003. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proc. R. Soc. London, Ser. B: Biol. Sci.*, 270(Suppl. 1): S96–S99.
- Heckel DG, 2003. Genomics in pure and applied entomology. *Annu. Rev. Entomol.*, 48: 235–260.
- Holopainen JK, Gershenson J, 2010. Multiple stress factors and the emission of plant VOCs. *Trends Plant Sci.*, 15(3): 176–184.
- Hopkins RJ, van Dam NM, van Loon JJ, 2009. Role of glucosinolates in insect-plant relationships and multitrophic interactions. *Annu. Rev. Entomol.*, 54: 57–83.
- Huang YP, Zhu XX, 2003. Molecular ecology—a new subject in life sciences. *Bulletin of Chinese Academy of Science*, (2): 84–87. [黄勇平, 朱湘雄, 2003. 分子生态学——生命科学领域的新学科. 中国科学院院刊, (2): 84–87.]
- Hwang WY, Fu YF, Reyon D, Maeder ML, Tsai SQ, Sander JD, Peterson RT, Yeh JRJ, Joung JK, 2013. Efficient genome editing in zebrafish using a CRISPR-Cas system. *Nature Biotech.*, 31(3): 227–229.
- Irving P, Troxler L, Heuer TS, Belvin M, Kopczynski C, Reichhart JM, Hoffmann JA, Hetru C, 2001. A genome-wide analysis of immune responses in *Drosophila*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98(26): 15119–15124.
- Ishiguro N, Tsuchida K, 2006. Polymorphic microsatellite loci for the rice stem borer, *Chilo suppressalis* (Walker) (Lepidoptera: Crambidae). *Appl. Entomol. Zool.*, 41(4): 565–568.
- James RR, Xu J, 2012. Mechanisms by which pesticides affect insect immunity. *J. Invertebr. Pathol.*, 109(2): 175–182.
- Janeway CA, 1989. Approaching the asymptote? evolution and revolution in immunology. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, 54(1): 1–13.
- Jasinskiene N, Coates CJ, Ashikyan A, James AA, 2003. High efficiency, site-specific excision of a marker gene by the phage P1 Cre-loxP system in the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *Nucleic. Acids. Res.*, 31(22): e147.
- Jasinskiene N, Coates CJ, James AA, 2000. Structure of Hermes integrations in the germline of the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *Insect Mol. Biol.*, 9(1): 11–18.
- Jiang WY, Bikard D, Cox D, Zhang F, Marraffini LA, 2013. RNA-guided editing of bacterial genomes using CRISPR-Cas systems. *Nature Biotech.*, 31(3): 233–239.
- Johnson MTJ, 2011. Evolutionary ecology of plant defences against herbivores. *Funct. Ecol.*, 25(2): 305–311.
- Junker RR, 2014. New synthesis: a holobiontic view on plant-insect interactions. *J. Chem. Ecol.*, 40(6): 521.
- Kanchon K, Walters JR, Briscoe AD, et al., 2012. Butterfly genome reveals promiscuous exchange of mimicry adaptations among species. *Nature*, 487(7405): 94–98.
- Keeling CI, Yuen MM, Liao NY, Docking TR, Chan SK, Taylor GA, Palmquist DL, Jackman SD, Nguyen A, Li M, Henderson H, Janes JK, Zhao Y, Pandoh P, Moore R, Sperling FA, Huber DP, Birol I, Jones SJ, Bohlmann J, 2013. Draft genome of the

- mountain pine beetle, *Dendroctonus ponderosae* Hopkins, a major forest pest. *Genome Biol.*, 14(3): R27.
- Klug A, 2010. The discovery of zinc fingers and their applications in gene regulation and genome manipulation. *Annu. Rev. Biochem.*, 79(1): 213–231.
- Kocher SD, Li C, Yang W, Tan H, Yi SV, Yang X, Hoekstra HE, Zhang G, Pierce NE, Yu DW, 2013. The draft genome of a socially polymorphic halictid bee, *Lasioglossum albipes*. *Genome Biol.*, 14(12): R142.
- Koepke D, Beyaert I, Gershenzon J, Hilker M, Schmidt A, 2010. Species-specific responses of pine sesquiterpene synthases to sawfly oviposition. *Phytochemistry*, 71(8/9): 909–917.
- Koepke D, Schroeder R, Fischer HM, Gershenzon J, Hilker M, Schmidt A, 2008. Does egg deposition by herbivorous pine sawflies affect transcription of sesquiterpene synthases in pine? *Planta*, 228(3): 427–438.
- Koornneef A, Pieterse CMJ, 2008. Cross talk in defense signaling. *Plant Physiol.*, 146(3): 839–844.
- Labandeira CC, 2013. A paleobiologic perspective on plant–insect interactions. *Curr. Opin. Plant. Biol.*, 16(4): 414–421.
- Li J Y, 2011. The effects of landscape features on the genetic structure of *Chilo suppressalis* (Walker) (Lepidoptera: Crambidae) at different scales. Master Dissertation. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University. [李金玉, 2011. 不同尺度农业景观特征对二化螟群体遗传结构的影响. 硕士学位论文. 福州: 福建农林大学.]
- Liu SM, Zhou S, Tian L, Guo EE, Luan YX, Zhang JZ, Li S, 2011. Genome-wide identification and characterization of ATP-binding cassette transporters in the silkworm, *Bombyx mori*. *BMC Genomics*, 12(1): 491.
- Liu Y, Wang N, Zhang Z, Li F, 2012. Application of transcriptome in insect resistance research. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 49(2): 317–323. [刘莹, 王娜, 张赞, 李飞, 2012. 五种鳞翅目害虫中抗药性相关基因的转录组学分析. 应用昆虫学报, 49(2): 317–323.]
- Lucas-Barbosa D, van Loon JJ, Dicke M, 2011. The effects of herbivore-induced plant volatiles on interactions between plants and flower-visiting insects. *Phytochemistry*, 72(13): 1647–1654.
- Lundgren JG, Fergen JK, 2014. Predator community structure and trophic linkage strength to a focal prey. *Mol. Ecol.*, 23(15): 3790–3798.
- Luo M, Lin YX, Yang YW, Ji JH, Zhang YH, Li YY, Meng XY, 2003. Biological pesticide—new force of pesticide in 21st century. *Hebei Journal of Industrial Science & Technology*, 20(5): 54–59. [罗敏, 林永贤, 杨玉旺, 冀建慧, 张宇辉, 李云艳, 孟晓艳, 2003. 生物农药—21 世纪农药的生力军. 河北工业科技, 20(5): 54–59.]
- Ma SJ, 1979. Integrated management of the major pests in China—introduction//Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences (ed). Integrated Management of the Major Pests in China. Beijing: Science Press. 1–21. [马世骏, 1979. 中国主要害虫综合防治——绪论. 中国科学院动物研究所主编: 中国主要害虫综合防治. 科学出版社. 1–21.]
- Ma Y, Ma J, Zhang X, Chen W, Yu L, Lu Y, Bai L, Shen B, Huang X, Zhang L, 2014. Generation of eGFP and Cre knockin rats by CRISPR/Cas9. *FEBS J.*, 281(17): 3779–3790.
- Malcolm J, Fraser JR, 2012. Insect transgenesis: current applications and future prospects. *Annu. Rev. Entomol.*, 57: 267–289.
- Manel S, Holderegger R, 2013. Ten years of landscape genetics. *Trends Ecol. Evol.*, 28(10): 614–621.
- Mao Y, Cai W, Wang J, Hong G, Tao X, Wang L, Huang Y, Chen X, 2007. Silencing a cotton bollworm P450 monooxygenase gene by plant-mediated RNAi impairs larval tolerance of gossypol. *Nat. Biotechnol.*, 25(11): 1307–1313.
- Margulies M, Egholm M, Altman WE, et al., 2005. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature*, 437(7057): 376–380.
- Marshall E, 2005. Will DNA bar codes breathe life into classification? *Science*, 307(5712): 1037.
- Medley KA, Jenkins DG, Hoffman EA, 2014. Human-aided and natural dispersal drive gene flow across the range of an invasive mosquito. *Mol. Ecol.*, DOI: 10.1111/mec.12925.
- Meng XF, 2008. Population genetic structure of *Chilo suppressalis* (Walker) (Lepidoptera: Crambidae) in China inferred from microsatellite markers and mtDNA gene sequences. PH.D. Dissertation. Hangzhou: Zhejiang University. [孟祥锋, 2008. 基于微卫星标记和线粒体基因序列的中国二化螟 *Chilo suppressalis* (Walker) 种群遗传结构研究. 博士学位论文. 杭州: 浙江大学.]
- Morris AC, Schaub TL, James AA, 1991. FLP-mediated recombination in the vector mosquito, *Aedes aegypti*. *Nucleic. Acids. Res.*, 19(21): 5895–5900.
- Moscou MJ, Bogdanove AJ, 2009. A simple cipher governs DNA recognition by TAL effectors. *Science*, 326(5959): 1501.
- Musser RO, Hum-Musser SM, Eichenseer H, Peiffer M, Ervin G, Murphy JB, Felton GW, 2002. Herbivory: caterpillar saliva beats plant defences. *Nature*, 416(6881): 599–600.
- Nakao T, Naoi A, Kawahara N, Hirase K, 2010. Mutation of the GABA receptor associated with fipronil resistance in the white backed plant hopper, *Sogatella furcifera*. *Pestic. Biochem. Phys.*,

- 97(3): 262–266.
- Newmaster SG, Thompson ID, Steeves RA, Rodgers AR, Fazekas AJ, Maloles JR, McMullin RT, Fryxell JM, 2013. Examination of two new technologies to assess the diet of woodland caribou: video recorders attached to collars and DNA barcoding. *Can. J. Forest Res.*, 43(10): 897–900.
- Oakeshott JG, Claudianos C, Campbell PM, Newcomb R, Russell R, 2005. Biochemical genetics and genomics of insect esterases/Lawrence IG, Sarjeet SG (eds). *Insect Pharmacology: Channels, Receptors, Toxins and Enzymes*. London: Elsevier. 229–301.
- Oppe CB, Dussourd DE, Garimella U, 2009. Visualizing a plant defense and insect counterplay: Alkaloid distribution in *Lobelia* leaves trenched by a *Plusiine* caterpillar. *J. Chem. Ecol.*, 35(6): 625–634.
- Oppert B, Elpidina EN, Toutges M, Mazumdar-Leighton S, 2010. Microarray analysis reveals strategies of *Tribolium castaneum* larvae to compensate for cysteine and serine protease inhibitors. *Comp. Biochem. Phys. D*, 5(4): 280–287.
- Östman Ö, Ekbom B, Bengtsson J, 2001. Landscape heterogeneity and farming practice influence biological control. *Basic Appl. Ecol.*, 2(4): 365–371.
- Pariset L, Joost S, Marsan PA, Valentini A, 2009. Landscape genomics and biased FST approaches reveal single nucleotide polymorphisms under selection in goat breeds of North-East Mediterranean. *BMC Genet.*, 10(1): 7.
- Pavlopoulos A, Berghammer AJ, Averof M, Klingler M, 2004. Efficient transformation of the beetle *Tribolium castaneum* using the Minos transposable element: Quantitative and qualitative analysis of genomic integration events. *Genetic*, 167(2): 737–746.
- Peiffer M, Tooker JF, Luthe DS, Felton GW, 2009. Plants on early alert: Glandular trichomes as sensors for insect herbivores. *New Phytol.*, 184(3): 644–656.
- Peng L, Yan Y, Liu WX, Wan FH, Wang JJ, 2010. Counter-defense mechanisms of phytophagous insects towards plant defense. *Acta Entomologica Sinica*, 53(5): 572–580. [彭露, 严盈, 刘万学, 万方浩, 王进军, 2010. 植食性昆虫对植物的反防御机制. 昆虫学报, 53(5): 572–580.]
- Petek M, Turnsek N, Gasparic MB, Novak MP, Gruden K, Slapar N, Popovic T, Strukelj B, Gruden K, Strukelj B, Jongsma MA, 2012. A complex of genes involved in adaptation of *Leptinotarsa decemlineata* larvae to induced potato defense. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 79(3): 153–181.
- Pu ZL, Li LY, Yang MH, 1979. Integrated management of the major pests in China—biological control//Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences (ed). *Integrated Management of the Major Pests in China*. Beijing: Science Press. 41–67. [蒲蜚龙, 李丽英, 杨明华, 1979. 中国主要害虫综合防治——生物防治. 中国科学院动物研究所主编. 中国主要害虫综合防治. 科学出版社. 41–67.]
- Puinean AM, Foster SP, Oliphant L, Denholm I, Field LM, Millar NS, Williamson MS, Bass C, 2010. Amplification of a cytochrome P450 gene is associated with resistance to neonicotinoid insecticides in the aphid *Myzus persicae*. *PLoS Genet.*, 6(6): e1000999.
- Qi WP, Ma XL, He WY, Chen W, Dong RF, You MS, 2014. ATP-binding cassette transporters and their mediated resistance to insecticides in arthropods. *Acta Entomologica Sinica*, 57(6): 729–736. [戚伟平, 马小丽, 何玮毅, 陈玮, 董人富, 尤民生, 2014. 节肢动物 ABC 转运蛋白及其介导的杀虫剂抗性. 昆虫学报, 57(6): 729–736.]
- Qiu DW, 2013. Research progress and prospect of bio-pesticides. *Plant Protection*, 39(5): 81–89. [邱德文, 2013. 生物农药研究进展与未来展望. 植物保护, 39(5): 81–89.]
- Qiu X, Sun W, McDonnell CM, Li-Byarlay H, Steele LD, Wu J, Xie J, Muir WM, Pittendrigh BR, 2013. Genome-wide analysis of genes associated with moderate and high DDT resistance in *Drosophila melanogaster*. *Pest Manag. Sci.*, 69(8): 930–937.
- Qiu XH, 2014. Molecular mechanisms of insecticide resistance mediated by cytochrome P450s in insects. *Acta Entomologica Sinica*, 57(4): 477–482. [邱星辉, 2014. 细胞色素 P450 介导的昆虫抗药性的分子机制. 昆虫学报, 57(4): 477–482.]
- Ranson H, 2002. Evolution of supergene families associated with insecticide resistance. *Science*, 298 (5591): 179–181.
- Reddy GVP, 2001. Comparative effectiveness of an integrated pest management system and other control tactics for managing the spider mite *Tetranychus ludeni* (Acari: Tetranychidae) on eggplant. *Exp. Appl. Acarol.*, 25(12): 985–992.
- Richards EH, Bradish H, Dani MP, Pietravalle S, Lawson A, 2011. Recombinant immunosuppressive protein from *Pimpla hypochondrica* venom (rVPr1) increases the susceptibility of *Mamestra brassicae* larvae to the fungal biological control agent, *Beauveria bassiana*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 78(3): 119–131.
- Richards EH, Dani MP, Bradish H, 2013. Immunosuppressive properties of a protein (rVPr1) from the venom of the endoparasitic wasp, *Pimpla hypochondriaca*: Mechanism of action and potential use for improving biological control strategies. *J. Insect Physiol.*, 59(2): 213–222.

- Richards EH, Paulina DM, 2010. A recombinant immunosuppressive protein from *Pimpla hypochondriaca* (rVPr1) increases the susceptibility of *Lacanobia oleracea* and *Mamestra brassicae* larvae to *Bacillus thuringiensis*. *J. Invertebr. Pathol.*, 104(1): 51–57.
- Richards S, Gibbs RA, Weinstock GM, Brown SJ, Denell R, Beeman RW, Brown SJ, Bucher G, 2008. The genome of the model beetle and pest *Tribolium castaneum*. *Nature*, 452(7190): 949–955.
- Rider JSD, Sun W, Ratcliffe RH, Stuart JJ, 2002. Chromosome landing near avirulence gene *vH13* in the Hessian fly. *Genome*, 45(5): 812–822.
- Riveron JM, Ibrahim SS, Chanda E, Mzilahowa T, Cuamba N, Irving H, Barnes KG, Ndula M, Wondji CS, 2014. The highly polymorphic *CYP6M7* cytochrome P450 gene partners with the directionally selected *CYP6P9a* and *CYP6P9b* genes to expand the pyrethroid resistance front in the malaria vector *Anopheles funestus* in Africa. *BMC genomics*, 15(1): 817.
- Robert CAM, Erb M, Duployer M, Zwahlen C, Doyen GR, Turlings TCJ, 2012. Herbivore-induced plant volatiles mediate host selection by a root herbivore. *New Phytol.*, 194(4): 1061–1069.
- Robinson GE, Hackett KJ, Purcell-Miramontes M, Brown SJ, Evans JD, Goldsmith MR, Lawson D, Okamuro J, Robertson HM, Schneider DJ, 2011. Creating a buzz about insect genomes. *Science*, 331(6023): 1386–1386.
- Rosenberg E, Zilber-Rosenberg I, 2011. Symbiosis and development: the hologenome concept. *Birth. Defects. Res. (Part C)*, 93(1): 56–66.
- Roth CW, Holm I, Graille M, Dehoux P, Rzhetsky A, Wincker P, Weissenbach J, Brey PT, 2003. Identification of the *Anopheles gambiae* ATP-binding cassette transporter superfamily genes. *Mol. Cells*, 15(2): 150–158.
- Rubin GM, Spradling AC, 1982. Genetic transformation of *Drosophila* with transposable element vectors. *Science*, 218(4570): 34853.
- Schmidt JM, Barney SK, Williams MA, Bessin RT, Coolong TW, Harwood JD, 2014. Predator–prey trophic relationships in response to organic management practices. *Mol. Ecol.*, 23(15): 3777–3789.
- Schneeberger K, Ossowski S, Lanz C, Juul T, Petersen AH, Nielsen KL, Jorgensen JE, Weigel D, Andersen S, 2009. SHOREmap: Simultaneous mapping and mutation identification by deep sequencing. *Nat. Methods*, 6(8): 550–551.
- Schulte SJ, Rider JSD, Hatchett JH, Stuart JJ, 1999. Molecular genetic mapping of three X-linked avirulence genes, *vH6*, *vH9* and *vH13*, in the Hessian fly. *Genome*, 42(5): 821–828.
- Schuman MC, Barthel K, Baldwin IT, 2012. Herbivory-induced volatiles function as defenses increasing fitness of the native plant *Nicotiana attenuata* in nature. *eLife*, 1: e00007.
- Shang Q, Pan Y, Fang K, Xi J, Wong A, Brennan JA, Cao C, 2014. Extensive *Ace2* duplication and multiple mutations on *Ace1* and *Ace2* are related with high level of organophosphates resistance in *Aphis gossypii*. *Environ. Toxicol.*, 29(5): 526–533.
- Shukle RH, Mittapalli O, Morton PK, Chen MS, 2009. Characterization and expression analysis of a gene encoding a secreted lipase-like protein expressed in the salivary glands of the larval Hessian fly, *Mayetiola destructor* (Say). *J. Insect Physiol.*, 55(2): 104–111.
- Signoret AGC, Penflor MFGV, Bento JMS, 2012. Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), female moths respond to herbivore-induced corn volatiles. *Neotrop. Entomol.*, 41(1): 22–26.
- Smadja C, Shi P, Butlin RK, Robertson HM, 2009. Large gene family expansions and adaptive evolution for odorant and gustatory receptors in the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Mol. Biol. Evol.*, 26(9): 2073–2086.
- Smith CM, Clement SL, 2012. Molecular bases of plant resistance to arthropods. *Annu. Rev. Entomol.*, 57: 309–328.
- Smith MA, Eveleigh ES, McCann KS, Merilo MT, McCarthy PC, Van Rooyen KI, 2011. Barcoding a quantified food web: crypsis, concepts, ecology and hypotheses. *PLoS ONE*, 6(7): e14424.
- Soria-Carrasco V, Gompert Z, Comeault AA, Farkas TE, Parchman TL, Johnston JS, Buerkle CA, Feder JL, Bast J, Schwander T, Egan SP, Crespi BJ, Nosil P, 2014. Stick insect genomes reveal natural selection's role in parallel speciation. *Science*, 344(6185): 738–742.
- Spear SF, Balkenhol N, FORTIN MJ, McRae BH, Scribner K, 2010. Use of resistance surfaces for landscape genetic studies: considerations for parameterization and analysis. *Mol. Ecol.*, 19(17): 3576–3591.
- Stoddard BL, 2005. Homing endonuclease structure and function. *Q. Rev. Biophys.*, 38(1): 49–95.
- Sun XD, 2005. Damage, type and reason of over-standard for pesticide residue in vegetable and its control measure. *Guizhou Agricultural Sciences*, 33(6): 99–100. [孙向东, 2005. 蔬菜农药残留的危害、种类、超标原因及应对措施. 贵州农业科学, 33(6): 99–100.]
- Swevers L, Smagghe G, 2012. Use of RNAi for control of insect crop pests. *Arthropod-Plant Interact.*, 14: 177–197.
- Taberlet P, Coissac E, Hajibabaei M, Rieseberg LH, 2012.

- Environmental DNA. *Mol. Ecol.*, 21(8): 1789–1793.
- Tan A, Palli SR, 2008. Edysone receptor isoforms play distinct roles in controlling molting and metamorphosis in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 291(1): 42–49.
- Tanaka H, Ishibashi J, Fujita K, Nakajima Y, Sagisaka A, *et al.*, 2008. A genome-wide analysis of genes and gene families involved in innate immunity of *Bombyx mori*. *Insect Biochem. Mol.*, 38(12): 1087–1110.
- Tang LD, Wang XM, Jin FL, Qiu BL, Wu JH, Ren SX, 2014. *De Novo* sequencing-based transcriptome and digital gene expression analysis reveals insecticide resistance-relevant genes in *Propylaea japonica* (Thunberg) (Coleoptea: Coccinellidae). *PLoS ONE*, 9(6): e100946.
- Terenius O, Papanicolaou A, Garbutt JS, Eleftherianos I, Huvenne H, Kanginakudru S, Albrechtsen M, An C, Aymeric J, Barthel A, 2011. RNA interference in Lepidoptera: an overview of successful and unsuccessful studies and implications for experimental design. *J. Insect Physiol.*, 57(2): 231–245.
- The International Aphid Genomics Consortium, 2010. Genome sequence of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. *PLoS Biol.*, 8(2): e1000313.
- The National Center for Biotechnology Information (NCBI). 2014. Genome Information by Organism. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/browse/>.
- Thivierge K, Prado A, Driscoll BT, Bonneil E, Thibault P, Bede JC, 2010. Caterpillar-and salivary-specific modification of plant proteins. *J. Proteome Res.*, 9(11): 5887–5895.
- Tooker JF, Peiffer M, Luthe DS, Felton GW, 2010. Trichomes as sensors: Detecting activity on the leaf surface. *Plant Signaling and Behavior.*, 5(1): 73–75.
- Valentini A, Pompanon F, Taberlet P, 2009. DNA barcoding for ecologists. *Trends Ecol. Evol.*, 24(2): 110–117.
- Veres A, Petit S, Conord C, Lavigne C, 2013. Does landscape composition affect pest abundance and their control by natural enemies? A review. *Agr. Ecosyst. Environ.*, 166(1): 110–117.
- Vilcinskis A, 2013. Evolutionary plasticity of insect immunity. *J. Insect Physiol.*, 59(2): 123–129.
- Vincent B, Dionne M, Kent MP, Lien S, Bernatchez L, 2013. Landscape genomics in Atlantic Salmon (*Salmo salar*): searching for gene–environment interactions driving local adaptation. *Evolution*, 67(12): 3469–3487.
- Wallberg A, Han F, Wellhagen G, Dahle B, Kawata M, Haddad N, Simoes ZL, Allsopp MH, Kandemir I, De la Rua P, Pirk CW, Webster MT, 2014. A worldwide survey of genome sequence variation provides insight into the evolutionary history of the honeybee *Apis mellifera*. *Nat. Genet.*, 46(10): 1081–1088.
- Wang H, Coates BS, Chen H, Sappington TW, Guillemaud T, Siegfried BD, 2013. Role of a gamma-aminobutyric acid (GABA) receptor mutation in the evolution and spread of *Diabrotica virgifera virgifera* resistance to cyclodiene insecticides. *Insect Mol. Biol.*, 22(5): 473–484.
- Wang XH, Fang XD, Yang PC, *et al.*, 2014. The locust genome provides insight into swarm formation and long-distance flight. *Nat. Commun.*, 5: 2957.
- Wang ZP, Ye FX, 2002. Biological pesticide-the ideal choice of future pesticide. *Applied Science and Technology*, 29(6): 51–53. [王正平, 叶贤富, 2002. 生物农药—未来农药的理想选择. 应用科技, 29(6): 51–53.]
- Waterhouse RM, Kriventseva EV, Meister S, Xi ZY, Alvarez KS, *et al.*, 2007. Evolutionary dynamics of immune-related genes and pathways in disease-vector mosquitoes. *Science*, 316(5832): 1738.
- Wei JN, Kang L, 2011. Roles of (Z)-3-hexenol in plant-insect interactions. *Plant Signaling and Behavior.*, 6(3): 369–371.
- Wei JN, Wang XH, Sun YC, Lu M, Zhang YJ, Wang GR, Xu WH, Kang L, 2012. Mechanisms for controlling insects by manipulating their genetics and behavior from gene to ecosystem. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 49(2): 299–308. [魏佳宁, 王宪辉, 孙玉诚, 鲁敏, 张永军, 王桂荣, 徐卫华, 康乐, 2012. 害虫的遗传与行为调控. 应用昆虫学报, 49(2): 299–308.]
- Weinstock GM, Robinson GE, Gibbs RA, *et al.*, 2006. Insights into social insects from the genome of the honeybee *Apis mellifera*. *Nature*, 443(7114): 931–949.
- Welchman DP, Aksoy S, Jiggins F, Lemaitre B, 2009. Insect immunity: from pattern recognition to symbiont-mediated host defense. *Cell Host Microbe.*, 6(2): 107–114.
- Werren JH, Richards S, Desjardins CA, *et al.*, 2010. Functional and evolutionary insights from the genomes of three parasitoid *Nasonia* species. *Science*, 327(5963): 343–348.
- Windbichler N, Menichelli M, Papatianos PA, Thyme SB, Li H, Ulge UY, Hovde BT, Baker D, Monnat RJ Jr, Burt A, Crisanti A, 2011. A synthetic homing endonuclease-based gene drive system in the human malaria mosquito. *Nature*, 473(7346): 212–215.
- Xia QY, Guo YR, Zhang Z, *et al.*, 2009. Complete resequencing of 40 genomes reveals domestication events and genes in silkworm (*Bombyx*). *Science*, 326(5951): 433–436.
- Xia QY, Zhou ZY, Lu C, *et al.*, 2004. A draft sequence for the genome of the domesticated silkworm (*Bombyx mori*). *Science*, 306(5703): 1937–1940.
- Xia XF, Zheng DD, Zhong HZ, Qin BC, Gurr GM, Vasseur L, Lin

- HL, Bai JL, He WY, You MS, 2013. DNA sequencing reveals the midgut microbiota of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) and a possible relationship with insecticide resistance. *PLoS ONE*, 8(7): e68852.
- Xiao JH, Yue Z, Jia LY, *et al.*, 2013. Obligate mutualism within a host drives the extreme specialization of a fig wasp genome. *Genome Biol.*, 14(12): R141.
- Xue J, Su JW, Li JW, Chen QF, 2007. Genetic diversity among five geographical populations of *Chilo suppressalis* based on RAPD. *Journal of Hunan Agricultural University, Natural Sciences*, 33(2): 160–163. [薛进, 苏建伟, 黎家文, 陈秋芳, 2007. 中国水稻二化螟 5 个地理种群遗传差异的 RAPD 分析. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 33(2): 160–163.]
- Xue Z, Ren M, Wu M, Dai J, Rong YS, Gao G, 2014. Efficient gene knock-out and knock-in with transgenic Cas9 in *Drosophila*. *G3 (Bethesda)*, 4(11): 925–929.
- Yang FX, Xie L, Wang LH, Fang JC, 2010. Genetic differences among different geographical populations of *Chilo suppressalis* in China. *Jiangsu J. of Agr. Sci.*, 26(3): 493–498. [杨凤霞, 谢霖, 王利华, 方继朝, 2010. 二化螟不同地理种群遗传差异分析. 江苏农业学报, 26(3): 493–498.]
- Yang G, You MS, Vasseur L, Zhao Y, Liu CH, 2011. Development of RNAi in insects and RNAi-based pest control // Stoytcheva M (ed.) Pesticides in the Modern World-Pest Control and Pesticides Exposure and Toxicity Assessment. Croatia: InTech. 27–38
- Yin CL, Liu Y, Liu JD, Xiao HM, Huang SQ, Lin YJ, Han ZJ, Li F, 2014. ChiloDB: a genomic and transcriptome database for an important rice insect pest *Chilo suppressalis*. *Database*, DOI: 10.1093/database/bau065.
- Yoccoz NG, 2012. The future of environmental DNA in ecology. *Mol. Ecol.*, 21(8): 2031–2038.
- You MS, Yue Z, He WY, *et al.*, 2013. A heterozygous moth genome provides insights into herbivory and detoxification. *Nat. Genet.*, 45(2): 220–225.
- Yu Q, Lu C, Li B, Fang S, Zuo W, Dai F, Zhang Z, Xiang Z, 2008. Identification, genomic organization and expression pattern of glutathione S-transferase in the silkworm, *Bombyx mori*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 38(12): 1158–1164.
- Yu QY, Lu C, Li WL, Xiang ZH, Zhang Z, 2009. Annotation and expression of carboxylesterases in the silkworm, *Bombyx mori*. *BMC Genomics*, 10(1): 553.
- Yuan YW, Byers KJRP, Bradshaw Jr HD, 2013. The genetic control of flower–pollinator specificity. *Curr. Opin. Plant. Biol.*, 16(4): 422–428.
- Zhan S, Merlin C, Boore JL, Reppert SM, 2011. The monarch butterfly genome yields insights into long-distance migration. *Cell*, 147(5): 1171–1185.
- Zhan S, Zhang W, Niitepold K, Hsu J, Haeger JF, Zalucki MP, Altizer S, de Roode JC, Reppert SM, Kronforst MR, 2014. The genetics of monarch butterfly migration and warning colouration. *Nature*, 514(7522): 317–321.
- Zheng YK, You MS, 2009. Biological diversity in support of ecologically-based pest management at landscape level. *Acta Ecologica Sinica*, 29(3): 1508–1518. [郑云开, 尤民生, 2009. 农业景观生物多样性与害虫生态控制. 生态学报, 29(3): 1508–1518.]
- Zhu F, Xu J, Palli R, Ferguson J, Palli SR, 2011. Ingested RNA interference for managing the populations of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *Pest Manag. Sci.*, 67(2): 175–182.
- Zhu-Salzman K, Koiwa H, Salzman RA, Shade RE, Ahn JE, 2003. Cowpea bruchid *Callosobruchus maculatus* uses a three-component strategy to overcome a plant defensive cysteine protease inhibitor. *Insect Mol. Biol.*, 12(2): 135–145.
- Zhu-Salzman K, Zeng RS, 2015. Insect response to plant defensive protease inhibitors. *Annu. Rev. Entomol.*, 60: 13.1–13.20.
- Zibae A, Bandani AR, Tork M, 2009. Effect of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*, and its secondary metabolite on detoxifying enzyme activities and acetylcholinesterase (AChE) of the Sunn pest, *Eurygaster integriceps* (Heteroptera: Scutellaridae). *Biocontrol Sci. Techn.*, 19(5): 485–498.
- Zou Z, Evans JD, Lu ZQ, Zhao PC, Williams M, Sumathipala N, Hetru C, Hultmark D, Jiang H, 2007. Comparative genomic analysis of the *Tribolium* immune system. *Genome Biol.*, DOI: 10.1186/gb-2007-8-8-r177.