

Ywhae 与 *Notch1* 在意大利蝗成虫不同组织和不同发育阶段蝗卵的表达分析*

蒋思涵** 赵娜 宋余 季荣*** 叶小芳***

(新疆师范大学生命科学学院, 中亚区域跨境有害生物联合控制国际研究中心, 新疆特殊环境物种保护与调控生物学实验室, 新疆特殊环境物种多样性应用与调控重点实验室, 乌鲁木齐 830054)

摘要 【目的】*Ywhae* 与 *Notch1* 在调节昆虫胚胎发育和生育能力中具有重要作用。本研究旨在明确 *Ywhae* 与 *Notch1* 是否为意大利蝗 *Calliptamus italicus* 的性别特征基因。【方法】基于意大利蝗雌、雄成虫的转录组数据, 初步发现 *Ywhae* 与 *Notch1* 为意大利蝗的雌雄差异表达基因, 进一步采用 qRT-PCR 技术检测这 2 个基因在雌、雄成虫不同组织 (体壁、肠道、卵巢和精巢) 以及不同发育阶段蝗卵中的表达模式。【结果】*Ywhae* 与 *Notch1* 在成虫各组织中均表达, 雄虫所有组织中的 *Ywhae* 表达量均显著高于雌虫 ($P<0.05$), *Notch1* 表达量在雄虫体壁与精巢中极显著高于雌虫体壁和卵巢 ($P<0.01$), 雌虫肠道中的 *Notch1* 表达量则极显著高于雄性 ($P<0.001$)。蝗卵发育过程中, 早期发育阶段和滞育后发育阶段 *Ywhae* 表达量均极显著高于滞育阶段 ($P<0.01$), 且在滞育后发育阶段表达量升至最高 ($P<0.001$); *Notch1* 在早期发育阶段表达量最高 ($P<0.01$), 当蝗卵进入滞育时其表达量极显著下降 ($P<0.001$), 滞育后发育阶段其表达量极显著上升 ($P<0.01$)。【结论】*Ywhae* 与 *Notch1* 均为性别特征基因, 且与蝗卵发育密切相关, 在胚胎早期发育阶段可能参与诱导性别向雄性发育。研究结果可为深入揭示意大利蝗的性别分化机制提供线索。

关键词 意大利蝗; 性别特征; *Ywhae*; *Notch1*

Expression analysis of *Ywhae* and *Notch1* in different adult tissues and eggs of *Calliptamus italicus*

JIANG Si-Han** ZHAO Na SONG Yu JI Rong*** YE Xiao-Fang***

(College of Life Science, Xinjiang Normal University, International Center for the Collaborative Management of Cross-border Pest in Central Asia, Xinjiang Key Laboratory of Special Species Conservation and Regulatory Biology, Key Laboratory of Special Environment Biodiversity Application and Regulation in Xinjiang, Urumqi 830054, China)

Abstract 【Objectives】To determine whether the *Ywhae* and *Notch1* genes, which play important roles in the regulation of embryo development and fertility in insects, are differentially expressed in male and female *Calliptamus italicus*. 【Methods】Transcriptome data of adult male and females indicated that *Ywhae* and *Notch1* are differentially expressed in the sexes of this species. We used qRT-PCR to detect the expression pattern of these two genes in different tissues (cuticle, intestine, ovary and testis) of female and male adults, and in eggs at different stages of development. 【Results】Both *Ywhae* and *Notch1* were expressed in different adult tissues. Expression of *Ywhae* was significantly higher in male than in female tissues ($P<0.05$). Expression of *Notch1* was significantly higher in the cuticle and testes of males than in cuticle and ovaries of females ($P<0.01$), and significantly higher in the intestines of females than males ($P<0.001$). Expression of *Ywhae* was significantly higher in eggs in the early-stage and in post-diapause stage, than in the diapause stage ($P<0.01$), and was highest in the post-diapause development stage ($P<0.001$). The expression of *Notch1* was highest in eggs in the early development stage ($P<0.01$), and

*资助项目 Supported projects: 新疆维吾尔自治区杰出青年科学基金项目 (2021D01E18); 新疆维吾尔自治区天山英才计划; 新疆师范大学校级重点学科生物学学科资助; 新疆师范大学 2022 年度青年拔尖人才项目 (XJNUQB2022-30)

**第一作者 First author, E-mail: 3269433533@qq.com

***共同通讯作者 Co-corresponding authors, E-mail: 44894047@qq.com; jirong@xjnu.edu.cn

收稿日期 Received: 2022-05-29; 接受日期 Accepted: 2022-12-30

decreased significantly after eggs entered diapause ($P < 0.001$). *Notch1* expression increased significantly after the termination of diapause ($P < 0.01$). [Conclusion] Both *Ywhae* and *Notch1* are differentially expressed in the sexes of *C. italicus*, and both genes are involved in the development of eggs. These genes are also involved in the development of the male reproductive system in the early embryonic stage. These results may provide clues revealing the mechanisms responsible for the differentiation of the sexes in *C. italicus*.

Key words *Calliptamus italicus*; sex character; *Ywhae*; *Notch1*

有性生殖是物种长期进化选择的结果,是大多数生命的基本特征(彭威和翟宗昭, 2021),对物种的繁衍与延续有重要意义(卓继冲, 2019)。对于经济昆虫,可通过性别控制来提高经济效益,如体质强健的家蚕 *Bombyx mori* 雄虫,所产的茧丝质量与数量均高于雌虫,单独培育雄蚕,可带来更好的经济收益(王子龙, 2009)。对于有害昆虫,若使其产下全部雄性子代,使害虫种群不能繁衍,在几个世代内可降低种群数量。通过此法墨西哥消灭了地中海实蝇 *Ceratitis capitata* (Rendon *et al.*, 2004),日本消灭了瓜实蝇 *Bactrocera cucurbitae* (王桂芝, 1992)。因此,了解昆虫性别分化机制有助于进行高效的经济昆虫生产和害虫防治。

研究表明, *Ywhae* 属于 Ywha 蛋白家族,参与调节重要的细胞过程,包括信号转导、细胞发育、分化、凋亡、蛋白运输等(Porter *et al.*, 2006; Shandala *et al.*, 2011; Stevers *et al.*, 2018)。Ywha 蛋白家族以多种亚型在真核生物中广泛存在(金曦等, 2022),但在昆虫仅有 *Ywhae* 与 *Ywhaz* 这 2 种亚型,且多项研究表明在昆虫中具有多种功能(Tabunoki *et al.*, 2008; Yoo *et al.*, 2011; Ng *et al.*, 2017)。如 *Ywhae* 在家蚕幼虫和成虫组织中广泛表达、在黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 的神经元分化、原始生殖细胞迁移中发挥重要作用(Tien *et al.*, 1999; Shandala *et al.*, 2011; Tsigkari *et al.*, 2012),还参与埃及伊蚊 *Aedes aegypti* 和黄粉虫 *Tenebrio molitor* 的先天免疫过程(Yoo *et al.*, 2011; Trujillo-Ocampo *et al.*, 2017)。

Notch1 在细胞生长分化过程中发挥重要作用,参与调节胚胎发育与器官形成过程中的细胞增殖、分化、迁移等多种生命活动(Hayashi *et al.*, 2001; 杨曦等, 2021), *Notch1* 在一些昆虫中的

同源基因为 *Notch*, 研究发现 *Notch* 参与埃及伊蚊卵子的卵孔形成并控制受精过程、果蝇胚胎的神经元分化与腿关节形成、东亚飞蝗 *Locusta migratoria manilensis* 蝗蝻翅的形成以及中国卤虫 *Artemia sinica* 胚胎发育早期复眼、附肢等多种器官的形成等重要生命活动(Baonza and Garcia-Bellido, 2000; 孙丽哲, 2011; Chang *et al.*, 2018; 徐子龙等, 2022)。通过比对发现 *Notch1* 与南美沙漠蝗 *Schistocerca americana* 的 *Notch* 同源性高达 78%,由此说明本研究中筛选的 *Notch1* 确为 *Notch* 的同源基因。意大利蝗是新疆草原的优势害虫,严重破坏当地草原生态环境,高繁殖力是其暴发成灾的重要原因之一(陈永林, 2000)。蝗虫的性别比例对其繁殖力和种群数量影响较大,但目前有关蝗虫性别特征基因的研究较为匮乏。基于课题组前期比较分析意大利蝗雌、雄成虫的转录组数据,筛选出性别特征相关基因 *Ywhae* 与 *Notch1*。结合文献报道,发现这 2 个基因在昆虫的胚胎发育、生殖能力和配子发生及活力中具有重要作用,但在意大利蝗中功能尚不清楚。因此本研究采用 qRT-PCR 技术检测 *Ywhae* 和 *Notch1* 在雌、雄意大利蝗成虫不同组织(体壁、肠道、卵巢和精巢)与卵期发育的表达模式,分析其与性别和胚胎发育的关系,为后续通过性别调控途径减轻蝗灾发生提供新思路。

1 材料与方法

1.1 样品采集

于新疆玛纳斯蝗区采集意大利蝗雌、雄成虫,进行田间笼罩饲养。以黄花苜蓿 *Medicago falcata* 饲喂。待成虫交配产卵后收集卵囊,并将卵囊埋于室外自然条件下土壤中孵化。根据闫蒙

云等 (2018) 的解剖方法和划分标准确定发育阶段, 根据以往经验定期取蝗卵进行解剖并于体式显微镜 (SMZ745T, 日本尼康) 下观察蝗卵发育情况, 收集早期发育阶段、滞育阶段、滞育后发育阶段的蝗卵于 - 80 °C 保存备用。解剖雌、雄成虫, 分别获取雌、雄不同组织 (体壁、肠道、卵巢和精巢), 加入 RNA-Be-Locker A 溶液 (生工, 上海), 4 °C 放置 12 h 后于 - 80 °C 冷冻保存。

1.2 总 RNA 提取与 cDNA 合成

称取成虫不同组织和不同发育阶段蝗卵各 100 mg, 液氮研磨后用 Trizol Reagent (美国, Invitrogen) 提取总 RNA, NanoDrop2000 测定 RNA 浓度和纯度。1% 琼脂糖电泳检测其质量, 质量合格的 RNA 使用反转录试剂盒 PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser (日本, TaKaRa) 合成 cDNA, 产物纯化试剂盒 BioFlux Biospin PCR Purification (博日科技, BSC03M1) 进行纯化, 纯化 cDNA 于 - 80 °C 保存。

1.3 实时荧光定量 PCR

使用 Primer 5.0 软件设计 *Ywhae* 和 *Notch1* 基因的扩增引物 (表 1)。采用 qRT-PCR 技术检测成虫不同组织和不同发育阶段蝗卵上述 2 个基因的相对表达量, 使用试剂盒 TB Green® Premix Ex Taq™ II (日本, TaKaRa) 进行 PCR 反应。以 1.2 中获得的 cDNA 为模板, β -actin 为内参基因, 每个阶段和成虫不同组织样品进行 3 次生物学重复, 2 次技术重复。15 μ L PCR 反应体系如下: ddH₂O 5.3 μ L, 上下游引物各 0.6 μ L (10 μ mol/L), 2 $\times$ TB Green®Premix Ex Taq TMII 7.5 μ L, DNA 模板 1 μ L。*Ywhae* 基因 PCR 反应条件: 95 °C 5 min; 95 °C 30 s, 59 °C 30 s, 72 °C 15 s, 40 个循环; 95 °C 10 s, 65 °C 60 s, 97 °C 1 s, 生成溶解曲线。*Notch1* 基因 PCR 反应条件: 95 °C 5 min; 95 °C 30 s, 63 °C 30 s, 72 °C 15 s, 40 个循环; 95 °C 10 s, 65 °C 60 s, 97 °C 1 s, 生成溶解曲线。

表 1 引物信息
Table 1 Primer information

引物 Primers	引物序列 (5'-3') Primer sequences (5'-3')	扩增片段长度 (bp) Length of amplified fragment (bp)
<i>Ywhae-F</i>	AAATCAAGACGGAGGGT	130
<i>Ywhae-R</i>	TGCCGCACAGACATAGA	130
<i>Notch1-F</i>	AAGGAGAAGTGCCAGACGAAA	162
<i>Notch1-R</i>	GCAACGAAGTCCAGTGTAATC	162
β -actin-F	AAGGCATCAGGGTGTGATGG	177
β -actin-R	GCCACCCTAAGCTCGTTGTA	177

1.4 数据分析

以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 *Ywhae* 和 *Notch1* 基因的相对表达量。使用 SPSS 26.0 软件中的单因素方差 (One-way ANOVA) 中的 Duncan's 检验法分析不同发育阶段蝗卵间的基因表达量差异, 使用独立样本 *T* 检验法分析雌、雄成虫同类组织的基因表达量差异, 结果以平均数 $\pm$ 标准误表示。 $P<0.05$ 代表差异显著, $P<0.01$ 代表差异极显著。

2 结果与分析

2.1 意大利蝗成虫不同组织中 *Ywhae* 表达模式

意大利蝗雌、雄成虫的体壁、肠道、卵巢与精巢等组织均能检测到 *Ywhae* 的表达, 其中, *Ywhae* 在雄虫体壁中的表达量 (1.20 ± 0.10) 显著高于雌虫 ($P<0.05$); 在雄虫肠道与精巢中的表达量分别为 (3.07 ± 0.15) 和 (2.07 ± 0.37), 极显著高于雌虫 ($P<0.01$) (图 1)。

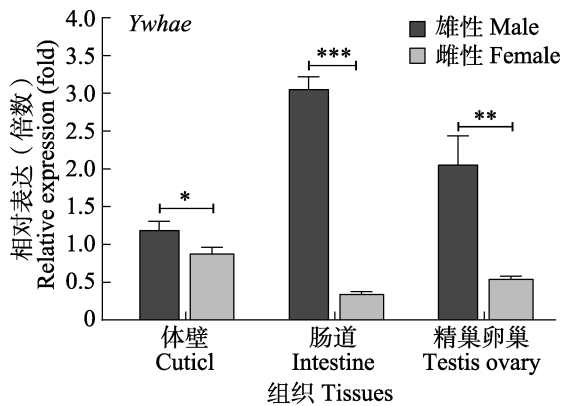


图 1 意大利蝗不同组织中 *Ywhae* 的表达倍数
Fig. 1 *Ywhae* expression fold in different tissues of *Calliptamus italicus*

柱上标有*、**和***分别表示在 0.05、0.01 和 0.001 水平下差异显著。下图同。

Histograms with *, ** and *** indicate significant differences at the 0.05, 0.01 and 0.001 level, respectively. The same below.

2.2 意大利蝗不同发育阶段蝗卵的 *Ywhae* 表达模式

Ywhae 在意大利蝗卵期整个发育过程均有表达 (图 2), 且整体呈先降后升的趋势。其中, 早期发育阶段蝗卵的 *Ywhae* 表达量较高, 当蝗卵进入滞育阶段, 其表达量极显著降低 ($P<0.01$), 滞育解除后, *Ywhae* 表达量极显著上升至最高 (1.62 ± 0.12) ($P<0.001$)。

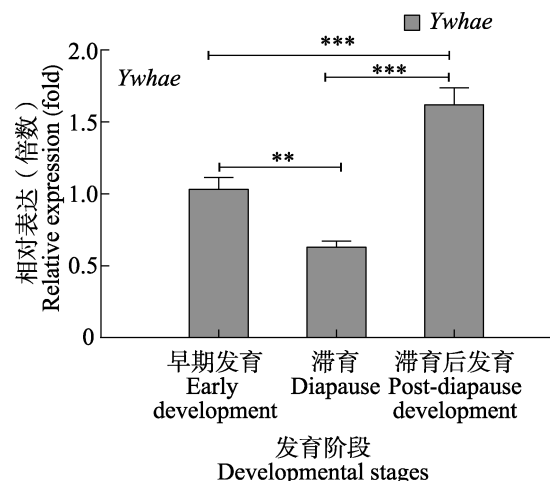


图 2 意大利蝗卵发育过程中 *Ywhae* 的表达倍数
Fig. 2 *Ywhae* expression fold in the development of *Calliptamus italicus* eggs

2.3 意大利蝗成虫组织的 *Notch1* 表达模式

Notch1 在意大利蝗雌、雄成虫的体壁、肠道、

卵巢和精巢等组织中均有表达且存在差异, 其中 *Notch1* 在雄虫体壁与精巢中的表达量分别为 (1.27 ± 0.07) 和 (80.52 ± 5.80), 极显著高于雌虫体壁和卵巢 ($P<0.01$), 但在雌虫肠道中的表达量 (1.71 ± 0.09) 极显著高于雄虫 ($P<0.001$) (图 3)。

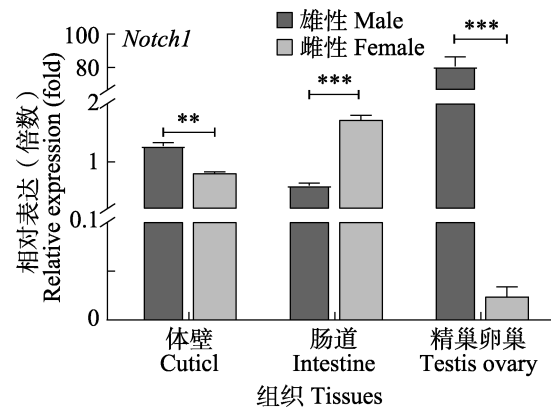


图 3 意大利蝗不同组织中 *Notch1* 的表达倍数
Fig. 3 *Notch1* expression fold in different tissues of *Calliptamus italicus*

2.4 意大利蝗不同发育阶段蝗卵的 *Notch1* 表达模式

Notch1 在意大利蝗卵期的整个发育过程均有表达, 呈先降后升趋势; 其中, *Notch1* 表达量在蝗卵早期发育阶段最高 (2.25 ± 0.24), 极显著高于其他阶段 ($P<0.01$), 在滞育阶段极显著降至最低 ($P<0.001$), 滞育解除后又极显著升高 ($P<0.01$)。

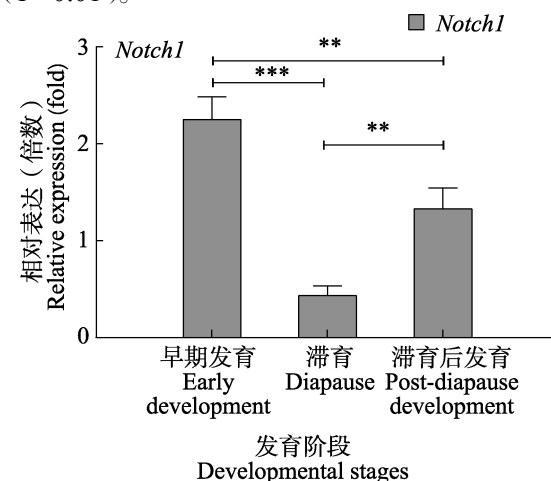


图 4 意大利蝗卵发育过程中 *Notch1* 的表达倍数
Fig. 4 *Notch1* expression fold in the development of *Calliptamus italicus* eggs

3 讨论

Ywhae 与 *Notch1* 是昆虫胚胎发育和配子发生的两个重要基因, *Ywhae* 能促进果蝇的神经元分化, 调控生殖系细胞迁移与存活; *Notch1* 可调控胚胎干细胞分化或成体细胞增殖, 在精子和卵子发育以及形态构建过程中也极为重要 (孙丽哲, 2011; 刘东尧, 2013; Chang *et al.*, 2018; 徐子龙等, 2022)。通过比较分析意大利蝗雌、雄成虫的转录组数据, 发现 *Ywhae* 与 *Notch1* 是雌、雄成虫差异表达基因, 为进一步明确这 2 个基因是否确为意大利蝗的性别差异基因, 并探索其在胚胎发育中的功能, 本研究检测了这 2 个基因在意大利蝗雌、雄成虫不同组织 (体壁、肠道、卵巢和精巢) 以及卵期胚胎发育的表达模式。

Ywha 家族在昆虫上仅有 2 位成员, *Ywhae* 作为其中之一在多种昆虫中被克隆表达, 具有抗逆、抗病、诱导生殖细胞迁移、参与能量代谢与生物合成等多种功能 (徐加明, 2018)。已有研究表明, *Ywhae* 存在于已分化的精母细胞与精子中段 (Jones *et al.*, 1995), 其缺失影响精子能量代谢, 致使精子数量减少, 活力降低且形态发生畸形, 造成雄性小鼠不育 (Eisa *et al.*, 2021)。本研究发现, *Ywhae* 在意大利蝗雄虫肠道、体壁和精巢中的表达量均显著高于雌虫同类组织, 说明该基因确系意大利蝗的性别特征基因, 推测精巢中 *Ywhae* 的高表达可能参与意大利蝗的精巢发育或精子形成。此外, *Ywhae* 在意大利蝗成虫卵巢中表达量虽低却依旧存在, 推测 *Ywhae* 也参与意大利蝗卵母细胞的发育, 但在雌性分化中并不起决定作用, 这与 Berendt (2009) 发现 *Ywhae* 在牛的卵母细胞中存在并促进卵母细胞成熟的研究结果一致。在意大利蝗体壁和肠道中 *Ywhae* 表达量皆为雄性显著高于雌性, 鉴于 *Ywhae* 在果蝇所有组织以及家蚕幼虫及成虫组织中都有表达 (Acevedo *et al.*, 2007; Tabunoki *et al.*, 2008), 因此推测 *Ywhae* 可广泛参与调控意大利蝗的生长发育, 但主要参与雄性发育。

Ywhae 在细胞生长、凋亡、细胞周期及信号转导等多种途径发挥作用, 在神经中枢的作用尤

为明显 (金曦等, 2022)。果蝇相关研究发现 *Ywhae* 不仅在整个发育过程均有表达, 且在其胚胎腹侧神经源区观察到明显的蛋白聚集 (Acevedo *et al.*, 2007; Ikeda *et al.*, 2008; Shandala *et al.*, 2011)。此外, 东亚飞蝗卵在早期发育阶段神经系统已经开始逐渐发育并形成腹部神经链 (宋佳, 2021), 结合 *Ywhae* 在意大利蝗卵的整个发育过程尤其是早期发育阶段高表达的现象, 推测 *Ywhae* 参与意大利蝗胚胎的神经系统发育。

果蝇中 *Ywhae* 在细胞代谢与能量供应中具有关键作用, *Ywhae* 缺失可使糖酵解、三羧酸循环和脂质代谢途径紊乱, 影响脂肪组织的能量代谢致使幼虫在向成虫转变途中死亡, 还与 *EcR* (Ecdysone receptor) 相互作用导致 *EcR* 靶标蛋白显著失调 (Ng *et al.*, 2017)。课题组前期研究发现滞育后发育阶段蝗卵的 *EcR* 表达量显著升高, 而蜕皮激素 (Ecdyson, Ecd) 与其靶标基因 *EcR* 结合能够促进意大利蝗胚胎角质层的生成 (待发表), 角质层在昆虫胚胎发育后期连续沉积的最后一层将成为孵化后的幼虫表皮 (Lagueux *et al.*, 1979)。本研究中, *Ywhae* 在意大利蝗卵滞育后发育阶段表达量最高, 推测随着意大利蝗卵滞育解除, 胚胎恢复发育, *Ywhae* 在滞育后发育阶段的高表达可能是因其参与细胞代谢, 产生更多能量为胚胎发育供能, 且促使 *EcR* 表达量增加, 与更多 Ecd 结合, 从而确保滞育解除后的胚胎角质层积累。与此相反的是, *Ywhae* 在意大利蝗卵滞育期间表达量很低, 说明该基因主要参与调控蝗卵的发育而不是滞育。

Notch 信号通路研究涉及多个领域且参与多种动物的组织和器官发育, 主要由 *Notch* 受体、配体、转录因子等构成 (Aguirre *et al.*, 2010; Chang *et al.*, 2018)。*Notch* 作为通路中的受体, 在干细胞的维持与分化、胚胎发育与器官形成过程的细胞增殖或凋亡中不可或缺 (戴少华, 2022)。在果蝇、秀丽隐杆线虫 *Caenorhabditis elegans* 中分别鉴定出 1 个和 2 个 *Notch* 基因 (Kidd *et al.*, 1983; Austin and Kimble, 1987; Greenwald, 1987)。本研究发现 *Notch1* 在雌、雄意大利蝗成虫体壁、肠道、卵巢和精巢中表达,

说明 *Notch1* 确实参与了蝗虫成体的多组织发育。此外, 研究发现 *Notch* 在果蝇雄性胚胎性腺的前体细胞中表达并诱导形成生殖干细胞 (Germ-line stem cell, GSC), 进而促使 GSC 自我更新并产生精子 (Kitadate and Kobayashi, 2010)。本研究虽并非所有雄性组织的 *Notch1* 表达量都显著高于雌性, 但在雄性精巢中表达量极显著高于雌性卵巢, 由此推测 *Notch1* 可能也参与了意大利蝗雄性的精子发生。同时, 在多种昆虫卵巢中都检测到 *Notch1* 的同源体, 如干扰飞蝗体内 *Notch* 后其卵巢和卵小管的发育基本停滞; 干扰埃及伊蚊体内 *Notch* 后其卵孔形成受阻, 精子无法通过卵孔进入卵子导致受精卵形成受阻进而引发不育 (李湾湾, 2018; Chang *et al.*, 2018)。本研究中 *Notch1* 在意大利蝗卵巢中表达量极少, 推测该基因参与了意大利蝗的卵巢或卵子发育, 但具体功能还有待进一步研究。

研究发现, 胚胎发育初期, 各种组织器官随细胞分化而不断形成, *Notch1* 的活性片段——胞质段 (Notch Intracellular Domain, NICD) 被转运进细胞核并参与早期胚胎发育过程的细胞定向分化 (张树君等, 2011)。本研究检测了 *Notch1* 在意大利蝗卵期不同发育阶段的表达, 结果显示早期发育阶段的 *Notch1* 表达量最高。早期发育阶段是意大利蝗卵胚胎形态建成的关键时期, 此时附肢出现, 胸部和腹部分节较为明显且复眼基本形成, 推测 *Notch1* 在早期发育阶段的高表达有助于形态组织构建和器官正常发育, 这与 *Notch* 在中国卤虫器官发育中的作用一致 (孙丽哲, 2011)。

本研究中, *Notch1* 仅在意大利蝗卵的滞育阶段呈低表达, 这可能是因为滞育卵的细胞有丝分裂速率迅速降低且胚胎生长停滞 (Slifer, 1931)。线粒体作为细胞的能量供给中心, 其活性高低影响机体的整体状态。研究发现棉铃虫滞育蛹脑中 *Notch* 蛋白含量远低于非滞育蛹脑, *Notch* 可通过调控棉铃虫线粒体活性来维持其滞育蛹的滞育状态或促进非滞育蛹的发育 (杨金花, 2016)。因此推测意大利蝗卵滞育期的 *Notch1* 低表达是为了抑制线粒体活性, 从而使胚胎维持滞育。滞育后发育阶段蝗卵的 *Notch1* 表达量较高, 可能

是因为此时蝗卵需要转录并翻译出更多 *Notch1* 蛋白以提高线粒体活性, 从而满足胚胎恢复发育的能量需求。

意大利蝗作为新疆草原的优势害虫, 明确其性别特征基因, 对其防治具有重要意义, 有利于拓展蝗虫防治新思路。本研究发现意大利蝗性别差异基因 *Ywhae* 与 *Notch1* 在成虫不同组织 (体壁、肠道、卵巢和精巢) 以及胚胎发育过程中均有表达, 表明 *Ywhae* 与 *Notch1* 参与了意大利蝗发育, 雄性组织中的表达量整体高于雌性, 尤其是精巢的表达量极显著高于卵巢, 说明 *Ywhae* 和 *Notch1* 确为性别特征基因。已有研究表明这 2 个基因在胚胎发育与配子发生过程极其重要, 但本研究并未深入探讨 *Ywhae* 与 *Notch1* 的具体功能, 还需进一步通过基因沉默或敲除等技术进行功能验证, 明确该基因在意大利蝗胚胎发育与性别控制中的作用, 最终实现蝗虫繁殖率的降低和种群数量减少。

参考文献 (References)

- Acevedo SF, Tsigkari KK, Grammenoudi S, Skoulakis EM, 2007. *In vivo* functional specificity and homeostasis of *Drosophila* 14-3-3 proteins. *Genetics*, 177(1): 239–253.
- Aguirre A, Rubio ME, Gallo V, 2010. Notch and Egfr pathway interaction regulates neural stem cell number and self-renewal. *Nature*, 467(7313): 323–327.
- Austin J, Kimble J, 1987. *glp-1* is required in the germ line for regulation of the decision between mitosis and meiosis in *C. elegans*. *Cell*, 51(4): 589–599.
- Baonza A, Garcia-Bellido A, 2000. Notch signaling directly controls cell proliferation in the *Drosophila* wing disc. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(6): 2609–2614.
- Berendt FJ, Fröhlich T, Bolbrinker P, Boelhauve M, Güngör T, Habermann FA, Wolf E, Arnold GJ, 2009. Highly sensitive saturation labeling reveals changes in abundance of cell cycle-associated proteins and redox enzyme variants during oocyte maturation in vitro. *Proteomics*, 9(3): 550–564.
- Chang CH, Liu YT, Weng SC, Chen IY, Tsao PN, Shiao SH, 2018. The non-canonical Notch signaling is essential for the control of fertility in *Aedes aegypti*. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 12(3): e0006307.
- Chen YL, 2000. Control and ecological management of locust re-rampant. *Bulletin of Chinese Academy of Sciences*, 15(5):

- 341–345. [陈永林, 2000. 蝗虫再猖獗的控制与生态学治理. 中国科学院院刊, 15(5): 341–345.]
- Dai SH, 2022. Mechanism of Notch1 protects against myocardial ischemia-reperfusion injury via regulating mitochondrial fusion and fission. Doctoral dissertation. Nanchang: Nanchang University. [戴少华, 2022. Notch1 通路调控线粒体融合/裂解发挥心肌缺血再灌注损伤保护的机制. 博士学位论文. 南昌: 南昌大学.]
- Eisa A, Dey S, Ignatious A, Nofal W, Hess RA, Kurokawa M, Kline D, Vijayaraghavan S, 2021. The protein YWHAE (14 - 3 - 3 epsilon) in spermatozoa is essential for male fertility. *Andrology*, 9(1): 312–328.
- Greenwald I, 1987. The *lin-12* locus of *Caenorhabditis elegans*. *Bioessays*, 6(2): 70–73.
- Hayashi T, Kageyama Y, Ishzaka K, Xia G, Kihara K, Oshima H, 2001. Requirement of *Notch1* and its ligand *jagged 2* expressions for spermatogenesis in rat and human testes. *Journal of Andrology*, 22(6): 999–1011.
- Ikeda M, Hikita T, Taya S, Uruguchi-Asaki J, Toyo-Oka K, Wynshaw-Boris A, Ujike H, Inada T, Takao K, Miyakawa T, Ozaki N, Kaibuchi K, Iwata N, 2008. Identification of *Ywhae*, a gene encoding 14-3-3epsilon, as a possible susceptibility gene for schizophrenia. *Human Molecular Genetics*, 17(20): 3212–3222.
- Jing X, Dai MH, Zou YH, 2022. Genetic variation of *YWHAE* gene——“Switch” of disease control. *Journal of Central South University (Medical Science)*, 47(1): 101–108. [金曦, 戴曼晖, 周艳宏, 2022. *YWHAE* 基因遗传变异——疾病控制“开关”. 中南大学学报(医学版), 47(1): 101–108.]
- Jones DH, Ley S, Aitken A, 1995. Isoforms of 14-3-3 protein can form homo and heterodimers in vivo and in vitro: implications for function as adapter proteins. *Febs Letters*, 368(1): 55–58.
- Kidd S, Lockett TJ, Young MW, 1983. The *Notch* locus of *Drosophila melanogaster*. *Cell*, 34(2): 421–433.
- Kitadate Y, Kobayashi S, 2010. Notch and Egfr signaling act antagonistically to regulate germ-line stem cell niche formation in *Drosophila* male embryonic gonads. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(32): 14241–14246.
- Lagueux M, Hetru C, Goltzene F, Kappler C, Hoffmann JA, 1979. Ecdysone titre and metabolism in relation to cuticulogenesis in embryos of *Locusta migratoria*. *Journal of Insect Physiology*, 25(9): 709–723.
- Li WW, 2018. microRNA Cluster miR-2-13-71 regulates vitellogenesis and oocyte maturation by targeting *Notch* in the migratory locust. Master dissertation. Zhengzhou: Henan University. [李湾湾, 2018. microRNA 簇 miR-2-13-71 通过 *Notch* 调控飞蝗的卵黄生成与卵母细胞成熟. 硕士学位论文. 郑州: 河南大学.]
- Liu DY, Wu SD, Hua Y, He WF, He Y, Chen BL, Long CL, Wei GH, 2013. Expression of *Notch1* in testis tissue of suckling SD rats with cryptorchidism. *Chinese Journal of Biologicals*, 26(7): 962–965. [刘东尧, 吴盛德, 华燚, 何文飞, 何昀, 陈柏林, 龙春兰, 魏光辉, 2013. *Notch1* 在隐睾 SD 幼鼠睾丸组织中的表达及其意义. 中国生物制品学杂志, 26(7): 962–965.]
- Ng YS, Sorvina A, Bader CA, Weiland F, Lopez AF, Hoffmann P, Shandala T, Brook DA, 2017. Proteome analysis of *Drosophila* mutants identifies a regulatory role for 14-3-3ε in metabolic pathways. *Journal of Proteome Research*, 16(5): 1976–1987.
- Peng W, Zhai ZZ, 2021. Progress and prospects of insect sex determination mechanism. *Chinese Journal of Biological Control*, 37(6): 1313–1324. [彭威, 翟宗昭, 2021. 昆虫性别决定机制研究进展及展望. 中国生物防治学报, 37(6): 1313–1324.]
- Porter GW, Khuri FR, Fu H, 2006. Dynamic 14-3-3/client protein interactions integrate survival and apoptotic pathways. *Seminars in Cancer Biology*, 16(3): 193–202.
- Rendon P, Mcinnis D, Lance D, Stewart J, 2004. Medfly (Diptera: Tephritidae) genetic sexing: Large-scale field comparison of males-only and bisexual sterile fly releases in guatemala. *Journal of Economic Entomology*, 97(5): 1547–1553.
- Shandala T, Woodcock JM, Ng Y, Biggs L, Skoulakis EM, Brooks DA, Lopez AF, 2011. *Drosophila* 14-3-3ε has a crucial role in anti-microbial peptide secretion and innate immunity. *Journal of Cell Science*, 124(13): 2165–2174.
- Slifer EH, 1931. Insect development. II. Mitotic activity in the grasshopper embryo. *Journal of Morphology*, 51(2): 613–618.
- Song J, 2021. Screening of *Wnt* gene family analysis of temporal and spatial expression of *WntA* gene for *Locusta migratoria manilensis*. Master dissertation. Urumqi: Xinjiang Normal University. [宋佳, 2021. 东亚飞蝗 (*Locusta migratoria manilensis*) *Wnt* 家族基因筛查及 *LmmWntA* 基因的时空表达分析. 硕士学位论文. 乌鲁木齐: 新疆师范大学.]
- Stevens LM, Sijbesma E, Botta M, MacKintosh C, Obsil T, Landrieu I, Cau Y, Wilson AJ, Karawajczyk A, Eickhoff J, Davis J, Hann M, O'Mahony G, Doveston RG, Brunsveld L, Ottmann C, 2018. Modulators of 14-3-3 protein-protein interactions. *Journal of Medicinal Chemistry*, 61(9): 3755–3778.
- Sun LZ, 2011. Expression patterns in different developmental stages of *Notch* gene of *Artemia sinica*. Master dissertation. Dalian: Liaoning Normal University. [孙丽哲, 2011. *Notch* 在中国卤虫不同发育时期的表达模式. 硕士学位论文. 大连: 辽宁师范

- 大学.]
- Tabunoki H, Shimada T, Banno Y, Sato R, Kajiwarra H, Mita K, Satoh J, 2008. Identification of *Bombyx mori* 14-3-3 orthologs and the interactor *Hsp60*. *Neuroscience Research*, 61(3): 271–280.
- Tien AC, Hsei HY, Chien CT, 1999. Dynamic expression and cellular localization of the *Drosophila* 14-3-3 ϵ during embryonic development. *Mechanisms of Development*, 81(1/2): 209–212.
- Trujillo-Ocampo A, Cázares-Raga FE, Del Angel RM, Medina-Ramírez F, Santos-Argumedo L, Rodríguez MH, Hernández-Hernández FC, 2017. Participation of 14-3-3 ϵ and 14-3-3 ζ proteins in the phagocytosis, component of cellular immune response, in *Aedes* mosquito cell lines. *Parasites & Vectors*, 10(1): 1–12.
- Tsigkari KK, Acevedo SE, Skoulakis EMC, 2012. 14-3-3 ϵ is required for germ cell migration in *Drosophila*. *PLoS ONE*, 7(5): e36702.
- Wang GZ, 1992. Eradication of melon fly, *Dacus cucurbitae*, with isotope sterilization techniques in Japan. *Chinese Journal of Biological Control*, 8(2): 95–96. [王桂芝, 1992. 日本利用辐射不育技术根除瓜实蝇. 生物防治通报, 8(2): 95–96.]
- Wang ZL, 2009. Identification and function research of the key genes in the upper part of the *Bombyx mori* sex determination pathway. Doctoral dissertation. Chongqing: Southwest University. [王子龙, 2009. 家蚕性别决定途径上游关键基因的鉴定与功能研究. 博士学位论文. 重庆: 西南大学.]
- Xu JM, 2018. Effect of *Notch1* on neural stem cell differentiation induced by all-trans retinoic acid. Master dissertation. Jinan: Shandong University. [徐加明, 2018. *Notch1* 在全反式维甲酸诱导的神经干细胞分化中的作用. 硕士学位论文. 济南: 山东大学.]
- Xu ZL, Zhang FB, Wu ZC, Zhang J, Zhang JZ, Zhao XM, 2022. Function analysis of *LmNotch* in the wing development of *Locusta migratoria*. *Chinese Journal of Biological Control*, 38(4): 1001–1008. [徐子龙, 张福斌, 武兆辰, 张晶, 张建珍, 赵小明, 2022. *LmNotch* 基因在飞蝗翅发育中的功能分析. 中国生物防治学报, 38(4): 1001–1008.]
- Yan MY, Xu Y, Wang XX, Wang H, Ji R, Ye XF, 2018. The response of respiratory metabolism in overwintering eggs of Italian locust *Calliptamus italicus* (Orthoptera: Acrididae) to seasonal changes. *Journal of Plant Protection*, 45(6): 1302–1307. [闫蒙云, 徐叶, 王香香, 王晗, 季荣, 叶小芳, 2018. 意大利蝗卵越冬期呼吸代谢对季节变化的响应. 植物保护学报, 45(6): 1302–1307.]
- Yang JH, 2016. Notch signaling regulates pupal development in *Helicoverpa armigera*. Master dissertation. Guangzhou: Sun Yat-sen University. [杨金花, 2016. Notch 信号在棉铃虫蛹发育中的作用研究. 硕士学位论文. 广州: 中山大学.]
- Yang X, Chen P, Jiang X, Pan HM, Lu C, 2021. Research progress of Notch signaling pathway in insects. *Acta Entomologica Sinica*, 64(2): 250–258. [杨曦, 陈鹏, 蒋霞, 潘敏慧, 鲁成, 2021. 昆虫 Notch 信号通路研究进展. 昆虫学报, 64(2): 250–258.]
- Yoo JY, Hwang SH, Han YS, Cho S, 2011. Isolation and expression analysis of a homolog of the 14-3-3 epsilon gene in the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 76(2): 114–124.
- Zhang SJ, Chen JB, Yang CX, Li FF, Jiang R, Xu Q, 2011. Expression of Notch1 signal at early stage of development of hematopoietic system of mouse embryos. *Chinese Journal of Biologicals*, 24(9): 1061–1063. [张树君, 陈建斌, 杨春秀, 李芳菲, 姜蓉, 徐强, 2011. Notch1 信号在小鼠胚胎早期造血发育阶段的表达. 中国生物制品学杂志, 24(9): 1061–1063.]
- Zhuo JC, 2019. The sex determination of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. Doctoral dissertation. Hangzhou: Zhejiang University. [卓继冲, 2019. 褐飞虱性别决定的研究. 博士学位论文. 杭州: 浙江大学.]