斑翅果蝇抗菌肽的全基因组鉴定*

刘晓雨[1**] 刘嘉一[1] 唐 艳[2] 吴美曼[1] 代晓彦[3]
孟 娥[2***] 翟一凡[3***]

（1. 德州学院别尔哥罗德食品科学学院，德州 253023；2. 德州学院生态与资源环境学院，德州 253023；
3. 山东省农业科学院植物保护研究所，济南 250100）

摘 要 **【目的】**明确斑翅果蝇 *Drosophila suzukii* 抑菌能力在低温下的响应差异和抑菌主要物质-抗菌肽的组成、结构及进化特性。**【方法】** 利用浊度法测定斑翅果蝇各虫态在 14、18 和 22 ℃下对大肠杆菌 *Escherichia coli* 和金黄色葡萄球菌 *Staphyoccus aureus* 的抑菌差异；利用生物信息学分析抗菌肽基因家族的组成、结构及进化特性；利用定量 PCR 分析抗菌肽在不同温度下的转录水平差异。**【结果】** 斑翅果蝇卵期抑制大肠杆菌（$P < 0.01$）和金黄色葡萄球菌（$P < 0.001$）的能力在 18 ℃最低；幼虫抑制大肠杆菌（$P < 0.01$）和金黄色葡萄球菌（$P < 0.05$）的能力在 22 ℃最低；蛹对大肠杆菌（$P = 0.351$）和金黄色葡萄球菌（$P = 0.058$）抑制能力受温度影响不显著。该虫含有 3 大类 21 个抗菌肽，即 5 个 Attacin、5 个 Cecropin、7 个 Drosomycin、2 个 Diptericin、1 个 Defensin 和 1 个 Metchnikowin。斑翅果蝇同类抗菌肽间序列相似度较高，且多存在氨基酸突变现象；Attacins、Drosomycin 和 Defensin 分别与黑腹果蝇同类抗菌肽具有较近的亲缘关系，其余抗菌肽均呈现种属特异性。Diptericin A 在 22 ℃下的幼虫表达水平显著高于 14 和 18 ℃（$P < 0.05$）。**【结论】** 早春斑翅果蝇较强的抑菌能力可能减弱生防菌防治效果；抗菌肽组成具有种属特异性，抗菌肽对温度的响应各异。

关键词 温度胁迫；大肠杆菌；金黄色葡萄球菌；抗菌肽；基因家族

Genome-wide identification of the main antibacterial factor-antibacterial peptides

LIU Xiao-Yu[1**] LIU Jia-Yi[1] TANG Yan[2] WU Mei-Man[1]
DAI Xiao-Yan[3] MENG E[2***] ZHAI Yi-Fan[3***]

(1. Belgorod Institute of Food Sciences, Dezhou University, Dezhou 253023, China;
2. College of Ecology, Resources and Environment, Dezhou University, Dezhou 253023, China;
3. Institute of Plant Protection, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China)

Abstract **[Aim]** To investigate the effect of temperature on the immune system of the spotted-wing drosophila, *Drosophila suzukii*, a globally significant agricultural pest, and also determine the composition, structure and evolutionary characteristics, of the antimicrobial peptides (AMPs) of this species. **[Methods]** The antibacterial activity of different developmental stages of *D. suzukii* reared at 14, 18 and 22 ℃ against *Escherichia coli* and *Staphyoccus aureus* was determined using the turbidimetric method, and the composition, structure and evolutionary relationship of its AMPs were analyzed using bioinformatics. Transcriptional levels of AMPs at different temperatures were measured with quantitative PCR. **[Results]** The lowest antibacterial activity of eggs against *E. coli* ($P < 0.01$) and *S. aureus* ($P < 0.001$) was measured at 18 ℃, and that of larvae against *E. coli* ($P < 0.01$) and *S. aureus* ($P < 0.05$) at 22 ℃. There was no significant difference in pupal antibacterial activity against *E. coli* ($P = 0.351$) or *S. aureus* ($P = 0.058$) among the tested temperatures. *D. suzukii* has 21 AMPs belonging to 3 groups, including 5 Attacins, 5 Cecropins, 7 Drosomycins, 2 Diptericins, 1 Defensin and 1

*资助项目 Supported project：山东省自然科学基金资助项目（ZR2021QC184）

**第一作者 First author，E-mail：ranqi_liu9813@qq.com

***共同通讯作者 Co-corresponding authors，E-mail：menge1987@126.com；saaszyifan@163.com

收稿日期 Received：2025-12-26；接受日期 Accepted：2026-03-03

Metchnikowin. The Drosomycins and Defensin have a close phylogenetic relationship to those of *D. melanogaster*, whereas the other AMPs were species-specific. Expression of Diptericin A transcripts of larvae at 22 ℃ was significantly higher than at 14 and 18 ℃ ($P < 0.05$). **[Conclusion]** Stronger antibacterial activity in early spring may reduce the effectiveness of biocontrol methods for *D. suzukii*. Most AMPs of this species are species-specific, and their response to temperature varied.

Key words temperature stress; *Escherichia coli*; *Staphyoccus aureus*; antibacterial peptides; gene family

斑翅果蝇 *Drosophila suzukii* 是为害软皮水果的世界性范围的重大经济害虫，与其它果蝇相比，其可为害即将成熟的果实（任路明等, 2014; Drummond *et al.*, 2019; 张金平等, 2021; 陈晓旭等, 2023）。目前，已有多种生物防治制剂用于斑翅果蝇的防治（Lee *et al.*, 2019; 田烨等, 2024），而免疫系统强弱对于生物防治制剂的防效至关重要。如斯氏线虫共生菌 *Xenorhabdus nematophila* 通过降低斑翅果蝇抗菌能力防治斑翅果蝇（Garriga *et al.*, 2020）；蜡样芽孢杆菌 *Bacillus cereus* H1 通过激活斑翅果蝇双氧化酶-活性氧-簇-c-Jun 氨基末端激酶信号通路[Dual oxidase（DUOX）-ROS-Jun N-terminal kinase, JNK]途径，增加血淋巴和肠道内的细菌载量，降低斑翅果蝇适应性（He *et al.*, 2025）。

昆虫抵御病原菌侵染的免疫反应包括细胞免疫的吞噬、结节等和体液免疫的抗菌肽合成、酚氧化酶（Phenoloxidase，PO）级联反应和活性氧（Reactive oxygen species，ROS）的产生等（Alinejad *et al.*, 2020; El-Saadi *et al.*, 2023）。抗菌肽在识别到病原菌后迅速合成，是抑制病原菌侵染的关键响应因子（Brownlie and Johnson, 2009; 袁伟宁等, 2024; Xu *et al.*, 2025）。昆虫抗菌肽按照结构特征主要分为 3 类，α 螺旋抗菌肽（α-helical AMPs）、β 折叠富半胱氨酸抗菌肽（β-sheet cysteine-rich AMPs）和富脯/甘氨酸抗菌肽（Proline/glycine-rich AMPs）（Zhou *et al.*, 2024），但不同物种所含抗菌肽种类各异。如橘小实蝇 *Bactrocera dorsalis* 基因组含 4 个 Attacins，12 个 Cecropins，11 个 Defensins 和 2 个 Diptericins，共计 29 个抗菌肽基因分属 3 大类（张小枫等, 2024）。黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 中含有 21 个抗菌肽/抗菌肽类似基因，其中 Drosomycin 和 Metchnikowin 主要具抗真菌活性，Cecropin 和 Defensin 参与抗细菌和抗真菌，Drosocin、Attacin 和 Diptericin 具抗细菌活性（Hanson and Lemaitre, 2020）。

温度和感染是昆虫的生长发育过程中遇到的主要选择压力（Donga and Baributsa, 2023）。免疫系统是昆虫应对低温和病原菌入侵的关键生理机制（Alinejad *et al.*, 2020）。普遍认为免疫作为酶促反应，高温增强其活性；但能源-资源权衡理论认为高温会降低免疫反应，并认为昆虫与病原菌的互作关系属于“基因型×基因型×环境”（Genotype-by-genotype-by-environment），即具有物种、病原菌和环境特异性（Ferguson and Adamo, 2023）。如高温显著增强了迁徙蝗 *Melanoplus sanguinipes* 的病原菌侵染率和感染前后的酚氧化酶活性（Srygley and Jaronski, 2022）；低温 18 ℃和高温 38 ℃下，寨卡病毒（Zika virus）和基孔肯雅病毒（Chikungunya viruses）侵染埃及伊蚊 *Aedes aegypti* 后，导致 Toll（Toll pathway）、免疫缺陷（Immunodeficiency signaling pathway, IMD）和 Janus 激酶/信号转导子和转录激活子（Janus kinase/signal transducer and activator of transcription, JAK-STAT）通路相关基因显著下调表达（Wimalasiri-Yapa *et al.*, 2021）等。不同种类的昆虫抗菌肽对温度的响应也不同，如温度对大蜡螟 *Galleria mellonella* Cecropins 和 Defensin 影响较大，而对富含特定氨基酸残基类抗菌肽影响较小（Vadim *et al.*, 2020）。

斑翅果蝇属于热敏感型果蝇，10 ℃开始发育，14 ℃以上开始产卵，最适生长温度为 20-25 ℃（David *et al.*, 2005）。山东樱桃成熟期环境气温在 15-25 ℃，此时是各类果蝇为害暴发期和防治的关键期，此时的低温对斑翅果蝇免疫系统的影响将直接影响生防制剂的防效。因此本研究以 14、18 和 22 ℃下饲养的斑翅果蝇为研究对象，分析山东为害期斑翅果蝇卵、幼虫和蛹

的抑菌能力差异；同时，依托现有的斑翅果蝇基因组数据，利用生物信息学技术开展了抑菌反应的免疫响应物质——抗菌肽的基因家族分析，及抗细菌抗菌肽在不同温度下的表达差异；这些研究不仅对于评价田间生防制剂防效至关重要，对于深入理解温度对寄主与致病微生物的互作的调控机制也具有重要意义。而且昆虫抗菌肽因可靶标抗生素抗性病原菌，被认为是抗生素临床应用的替代品（Ageitos *et al.*, 2017; Chen and Lu, 2020），对其特性的深入了解可有助于解决日益严峻的抗生素耐药性问题（Nwobodo *et al.*, 2022; Makwana *et al.*, 2023）。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

斑翅果蝇初始种群由山东省农业科学院植物保护研究所提供。将初始种群在（14 ± 1）、（18 ± 1）和（22 ± 1）℃、相对湿度 70% ± 5%，光周期 16 L∶8 D 的人工气候箱（ZRX-280D-LED，宁波科晟实验仪器有限公司）中以苹果饲养半年以上。

1.2 不同温度下斑翅果蝇抑菌活性测定

利用浊度法测定不同温度下的抑菌活性。收集不同温度下的斑翅果蝇初日卵（100 粒）、4 日龄的幼虫和初蛹（各 50 头）于离心管中，置液氮中冷冻保存。向离心管中加入 500 μL 预冷的 1×磷酸盐缓冲液（Phosphate buffer solution，PBS，北京索莱宝科技有限公司）和 1 个直径 2 mm 钢珠后，置于冷冻研磨仪（山东百欧医疗科技有限公司）中以 4 ℃，70 Hz 条件研磨 1 min。将研磨液 4 ℃，8 000 r/min 离心 5 min 后，取上清备用。

将冷冻于 - 80 ℃的大肠杆菌 *Escherichia coli* T1（北京全式金生物科技有限公司）和金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* 甘油菌（实验室自传代）在 37 ℃下活化。将活化菌液于 37 ℃ 200 r/min 下培养至 OD_{600} = 0.2，稀释 100 倍待用。

取 20 μL 研磨上清液加入到含 20 μL 1×PBS 和 100 μL 稀释的大肠杆菌或金黄色葡萄球菌菌液的 96 孔板中混匀，利用酶标仪测定 37 ℃，200 r/min 培养 12 h 前后 OD_{600} 的吸光值变化。混合液 37 ℃，12 h 前后 OD_{600} 的变化即为各处理的抑菌活性。抑菌能力越强，光密度值变化越小。以四环素处理为阳性对照，PBS 处理为阴性对照。所有样品测量 2 次，取平均值后用于后续分析。实验选取各温度下不同批次饲养的虫子重复 3 次。

1.3 斑翅果蝇抗菌肽的鉴定和序列分析

1.3.1 基因家族的鉴定 从果蝇基因组数据库 FlyBase（http://flybase.org）下载黑腹果蝇 Attacins（4 个）、Cecropins（5 个）、Defensin（1 个）、Diptericin（2 个）、Drosocin（1 个）、Drosomycins（7 个）和 Metchnikowin（1 个）已知的 7 种 20 个抗菌肽的氨基酸序列（Hanson and Lemaitre, 2020）。分别从 NCBI（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/）和 UniProt（https://www.uniprot.org/）数据库下载斑翅果蝇的基因组（GenBank: GCA_037355615.1, WGS project: JAYKXL01）和蛋白组（Unique proteome identifier：UP001515501）。以斑翅果蝇基因组和蛋白组为本地数据库，黑腹果蝇的抗菌肽的氨基酸序列为询问序列，利用 Tbtools 的 Blast 插件本地检索，将 $e < 10^{-5}$ 作为候选抗菌肽筛选标准。

抗菌肽序列的隐马尔科夫模型（Hidden Markov model，HMM）文件 PF00304、PF01097、PF03769、PF08105、PF00272、PF03768、PF03769 和 F08194 从 Pfam 蛋白数据库（http:xfam.org）下载。利用 Tbtools 软件的 Simple HMM Search 插件再次进行序列筛选，将筛选获得的氨基酸序列作为候选抗菌肽基因。为进一步明确候选氨基酸序列是否属于抗菌肽家族，利用 SMART（http://smart.embl.de/）和 NCBI Conserved Domain Search（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/ Structure/bwrpsb/bwrpsb.cgi）对两种方法获得的氨基酸序列的保守结构域分析，将至少含有 1 个保守结构域的多肽统计为抗菌肽家族基因，利用 Gene ID 或蛋白 ID 分别在基因组和蛋白组中下载对应的碱基和氨基酸序列进行后续分析。

1.3.2　基因家族的理化分析和系统发育树的构建　将上述鉴定获得的抗菌肽基因序列 ID 和斑翅果蝇基因组的 GTF 文件导入 Tbtools 的 Gene location visualize from GTF 插件，分析基因在染色体上的分布情况，将基因间距小于 20 kb 的基因定义为基因簇。将斑翅果蝇蛋白组中的抗菌肽氨基酸序列输入 Pepstats（https://emboss.bioinformatics.nl/cgi-bin/emboss/pepstats）进行分子量、等电点和净电荷预测；利用 SignalP-6.0（https://services.healthtech.dtu.dk/services/SignalP-6.0/）和 ProP-1.0（http://www.cbs.dtu.dk/services/ProP/）进行信号肽和前肽预测。利用 Mega 5.1 进行多重比对，ESPript 3.0（http://espript.ibcp.fr/ESPript/cgi-bin/ESPript.cgi）对多重比对数据进行美化。选取 20 个模式昆虫的抗菌肽，利用 IQ-TREE（http://www.iqtree.org/）网站插件和默认参数选择最大似然法构建系统发育树，以明确其系统发育进程。系统发育树利用 Figtree v1.4.4 进行美化。

1.4　不同温度下部分抗菌肽基因表达模式分析

为明确抗细菌类抗菌肽响应温度的差异，本研究对细菌类抗菌肽 Attacin、Cecropin 和 Diptericin 在不同温度下幼虫的表达量差异进行了分析。收集不同温度下斑翅果蝇 4 日龄幼虫，利用 MagicPure® Total RNA Kit 进行提取总 RNA。利用 TransScript® Uni All-in-One First Strand cDNA Synthesis SuperMix for qPCR 进行 cDNA 反转，使用 PerfectStart® Green qPCR SuperMix（北京全式金生物技术有限公司）在 BioRAD CFX 荧光定量 PCR 仪器进行定量 PCR。为设计定量 PCR 特异性引物，首先将 NCBI 获得的序列，利用 Primer premier 5 设计引物进行基因序列验证后，用已验证的序列为模版在 Primer Premier 3 online 设计定量引物（表 1），引物均由青岛铂尚生物技术有限公司合成。内参基因 RPT6 的引物参照 Yoon 等（2023）。反应条件：94 ℃预变性 30 s；94 ℃变性 5 s，60 ℃退火 15 s，72 ℃延伸 10 s，进行 40 个循环，溶解曲线反应条件选用系统默认。每组 4 次生物学重复，使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行各基因相对表达量的计算。

1.5　数据分析

利用 Microsoft office LTFC professional 2021 Excel 软件进行实验数据整理。利用 SPSS 21.0

表 1　本研究中应用到的引物
Table 1　Primers used in this study

引物名称 Primer name	序列（5′-3′） Sequence (5′-3′)	溶解温度（℃） Melt temperature (℃)	扩增基因 Amplifed gene
q108009529F	CCATTCGATTCCGCCGACAG	85.5	108009529*
q108009529R	GGGTGGGATTTCCAATGCTCTTA		
q108019663F	GGCAGTCGCAGGATCGTAAT	85.0	108019663
q108019663R	GGGAGATTCCTAGGTTGGCG		
q108016454F	GGATGCCACCATTCAGGTCA	85.0	108016454
q108016454R	GGCAGTCTAAGAGGCGTGAA		
q108006756F	AGCCGGTTGGCTGAAGAAAT	86.5	108006756
q108006756R	TCAAAGCTCATCCTCTGGCG		
q108017893F	CTTTGGTGTGCAAGGTCACG	85.0	108017893
q108017893R	GTTTCCATAAGGTCCGCCCA		
q108015348F	AGAAGGTGCTGGTCAAGGTG	84.5	RPT6（内参基因 Reference genes）
q108015348R	TAGCTCTCATTTCGCAGGGC		

可同时扩增 136116514 和 108009723 基因。 Co-amplify 136116514 and 108009723.

（美国 IBM 公司）软件的单样本柯尔莫哥洛夫-斯米诺夫检验（One-sample Kolmogorov-Smirnov test）和列文检验（Levene’ test）进行虫态或温度对昆虫抑菌差异的影响数据的正态分布和方差齐性检验。除幼虫对大肠杆菌的抑制能力因不符合方差齐性，进行 Welch’s ANOVA 分析后，Dunnet’s 多重检验外，其余数据均利用单因素方差检验和 Tukey’s HSD 进行数据分析；选取 $P < 0.05$ 视为差异显著。利用 Graphpad Prism 10.1.2 制图软件做图。

2 结果与分析

2.1 温度显著影响斑翅果蝇卵和幼虫的抑菌能力

温度显著影响斑翅果蝇卵对大肠杆菌（图 1：A）和金黄色葡萄球菌抑制能力以及幼虫对金黄色葡萄球菌的抑制能力（图 1：B）。斑翅果蝇卵抑制大肠杆菌和金黄色葡萄球菌能力均在 18 ℃最低，22 ℃抑制大肠杆菌能力最强；14 ℃抑制金黄色葡萄球菌的能力最强（大肠杆菌：$F_{2,\ 6}$= 93.75，$P < 0.01$；金黄色葡萄球菌：$F_{2,\ 8}$=33.43，$P < 0.001$）。果蝇幼虫 22 ℃下抑制大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的能力显著低于 14 ℃，18 ℃与 14 ℃和 22 ℃间无显著差异（大肠杆菌：$F_{2,\ 1.57}$=1 065.73，$P = 0.004$；金黄色葡萄球菌：$F_{2,\ 5}$=9.79，$P = 0.019$）。蛹期抑制大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的能力在不同温度下无显著差异（大肠杆菌：$F_{2,\ 6}$= 1.252，$P = 0.351$；金黄色葡萄球菌：$F_{2,\ 9}$=4.388，$P = 0.058$）。

2.2 斑翅果蝇抗菌肽基因组成及基因簇分析

黑腹果蝇抗菌肽蛋白在斑翅果蝇基因组和蛋白组中进行同源比对，共筛选获得 21 个抗菌肽蛋白（表 2，图 2），5 个 Dromocysin 和 5 个 Cecropin 抗菌肽成簇表达于染色体 3（NC_092082.1）上；2 个 Dromocysin Like、2 个 Diptericin 和 3 个 Attacin 基因成簇表达于染色体 2R（NC_092081.1）；Attacin C（108019663）、Defensin (108009556)和 Metchnikowin (108017949) 单独分布于 2R 染色体上；染色体 3 上也存在一个单独的 Attacin 基因（108017332），所有抗菌肽均在常染色体上。

2.3 斑翅果蝇抗菌肽理化特性及结构分析

2.3.1 天蚕素 Cecropin 理化特性和结构分析

斑翅果蝇的 5 个 *Cecropin* 的碱基相似度为 71.87%，碱基差异多在 5′和 3′端。Cecropin 均含有信号肽，无假基因存在，成熟肽均含 40 个氨基酸，净电荷多为 5.5（表 2）。多重比对发现（图 3：A），Cecropin 氨基酸序列之间只有 13 个氨基酸位点有差异，且 6 个存在于信号肽区域。108016454 成熟肽的第 24、25 位由 GL 突变为 VI，使斑翅果蝇 Cecropin 形成 2 种 Hinge 位点 GLG/VIG（G 和 V 均为疏水位氨基酸）。

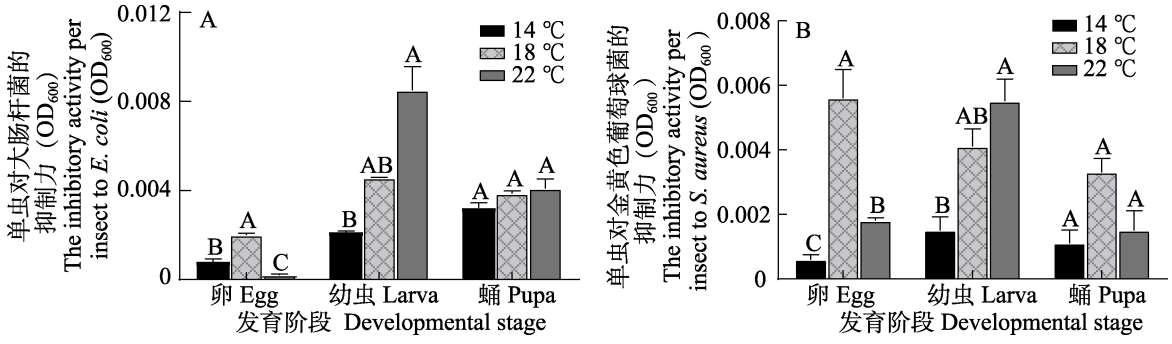

图 1 斑翅果蝇温度和虫态对大肠杆菌（A）和金黄色葡萄球菌（B）的抑制效果

Fig. 1 Effect of the temperature and developmental stages on the antibacterial activity to *Escherichia coli* (A) and *Staphylococcus aureus* (B) of *Drosophila suzukii*

柱上不同大写字母代表差异显著（$P < 0.05$，Tukey 多重范围检验）。

Different uppercase letters above bars represent significant difference ($P < 0.05$, Tukey’s multiple range test).

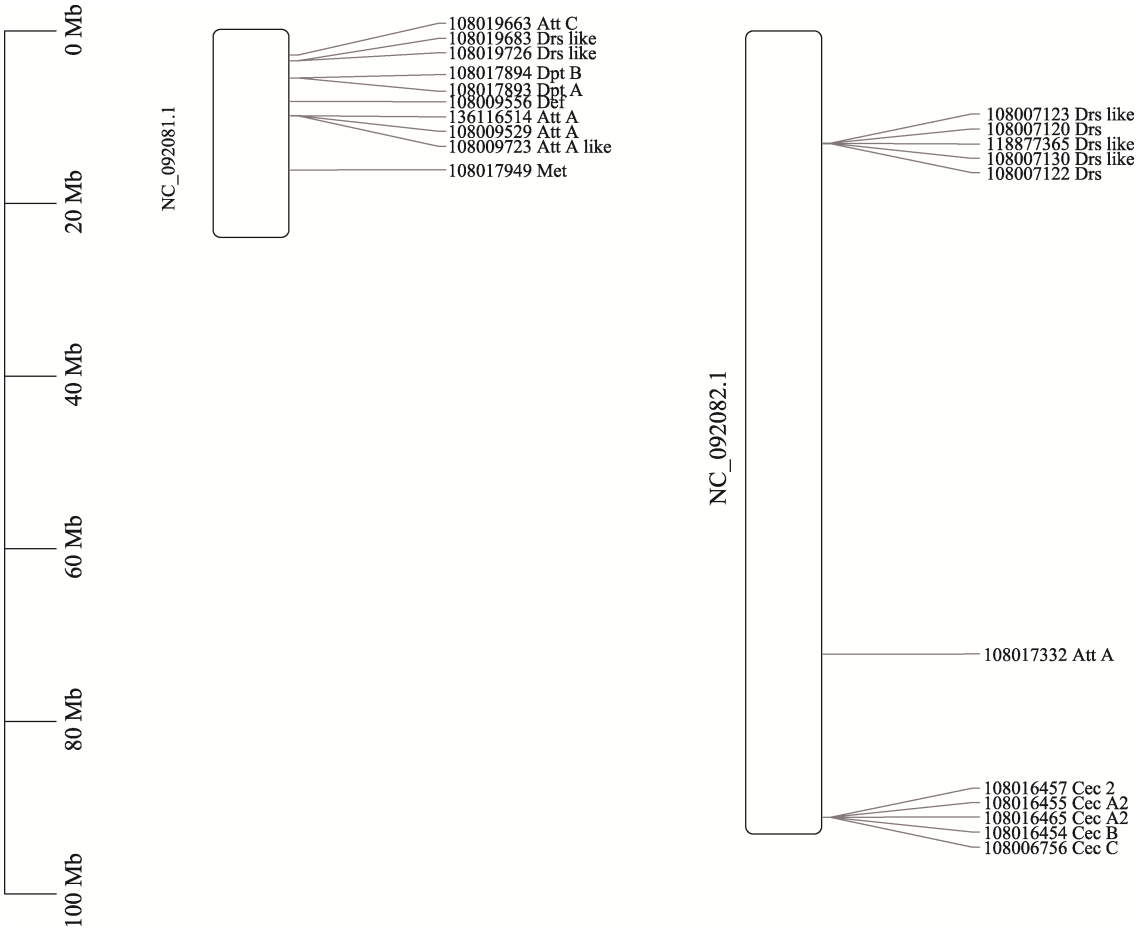

图 2　斑翅果蝇抗菌肽的染色体位置

Fig. 2　Chromosomal locus of antimicrobial peptides of *Drosophila suzukii*

2.3.2　防御素 Defensin 和抗真菌肽 Drosomycin 抗菌肽理化特性和结构分析　防御素 Defensin 和抗真菌肽 Drosomycin 抗菌肽均属于富含半胱氨酸残基的碱性多肽。对 mRNA 序列分析发现，斑翅果蝇 7 个 *Drosomycin*/*Drosomycin-like* 基因的碱基相似度在 41.59%，碱基差异多在 5′和 3′端。Drosomycin/Drosomycin-like 均含有信号肽，成熟肽含有 44-45 个氨基酸，分子量在 7.63-8.15 kD 之间，净电荷量最高为 6.5，且存在电荷为 0 的多肽。斑翅果蝇 Drosomycin 中 8 个保守的半胱氨酸残基形成二硫键；Drosomycin 108007122 和 108007120 含有 Ser4、Gly9、Asn16、Glu26、Gly31、Pro35、第 7 位的芳香族氨基酸（Tyr）和第 38 位的碱基氨基酸（Lys）。Defensin 成熟肽含有 72 个氨基酸，含有 6 个保守的半胱氨酸残基，参与二硫键形成。多重比对（图 3：B）发现，Defensin 和 Drosomycin 基因均含有 CXC 和 CXXXC 基序。

2.3.3　富特定氨基酸抗菌肽理化特性和结构分析　攻击素 Attacin 和双翅肽 Diptericin 均属于富甘氨酸抗菌肽。斑翅果蝇体内 *Attacin* 基因 108009529、136116514 和 108009723 的碱基相似度达到 84.62%，三者与 108019663 的碱基相似度在 78.03%，四者与 108017332 的相似度较小，合计共 5 个 *Attacin* 基因；分子量在 18.55-25.44 kD，等电点均在 10 以上，属于 Basic Attacin（表 2）。多重比较和保守结构域分析发现（图 3：C），除 108017332 外，其余 4 种 Attacin 均含有信号肽、前肽、Attacin C 和 Attacin N 结构域和 RXXRXRR 的前肽基序。108017332 无信号肽和前肽。进一步分析发现 108009723 与 136116514 之间有 19 个差异氨基酸，108009723 与 108009529 之间有 5 个差异氨基酸；136116514 与 108009529 之间有 14 个差异氨基酸；且这些

表 2　斑翅果蝇抗菌肽基因种类及特性

Table 2　The characteristic and types of antimicrobial peptides of *Drosophila suzukii*

	类型 Type	亚组名/简写 Subgroup/ Abbreviation	名称 Name	基因序列号 Gene ID	信号肽 Signal peptide	裂解位点 Cleavage site	大小（bp）Size (bp)		等电点 Isoelectric point	分子量（kD） Molecular weight (kD)	净电荷 Net charge
							前肽 Propeptide	成熟肽 Mature peptide			
1	α 螺旋抗细菌/ 真菌肽 α-Helica antibacterial/ Antifungi peptides	天蚕素 Cecropin/Cec	Cec 2	108016457	是 Yes	23-24	/	40	10.99	6.77	5.5
2			Cec A2	108016455	是 Yes	23-24	/	40	11.65	6.75	5.5
3			Cec A2	108016465	是 Yes	23-24	/	40	11.20	6.70	4.5
4			Cec B	108016454	是 Yes	23-24	/	40	11.65	6.82	5.5
5			Cec C	108006756	是 Yes	23-24	/	40	11.65	6.78	5.5
6	β-片层富半胱氨酸 β-Sheet cysteine rich	防御素 Defensin/Def	Def	108009556	是 Yes	20-21	/	72	7.20	10.21	2.0
7	抗真菌/革兰氏 阴性肽 Antifungal/ Gram-negative peptide	抗真菌肽 Drosomycin/Drs	Drs	108007122	是 Yes	26-27	/	44	6.82	7.79	0.5
8			Drs like	108019683	是 Yes	26-27	/	45	7.44	7.97	1.5
9			Drs like	108007130	是 Yes	26-27	/	45	8.08	8.15	3.5
10			Drs like	108019726	是 Yes	26-27	/	44	8.23	7.87	4.5
11			Drs	108007120	是 Yes	25-26	/	44	6.82	7.73	0.5
12			Drs like	118877365	是 Yes	26-27	/	44	8.59	7.74	6.5
13			Drs like	108007123	是 Yes	26-27	/	45	6.40	7.63	0.0
14	富甘氨酸抗菌肽 Glycine rich AMP	攻击素 Attacin/Att	Att A	108017332	否 No	/	/	181	10.23	18.55	9.5
15			Att A	108009529	是 Yes	20-21	22-39	190	10.68	23.97	12.0
16			Att A	136116514	是 Yes	20-21	22-39	190	10.85	24.00	13.0
17			Att A like	108009723	是 Yes	20-21	22-39	169	10.76	21.82	11.0
18			Att C	108019663	是 Yes	19-20	21-48	193	10.20	25.44	12.0
19		双翅肽 Diptericin/Dip	Dip A	108017893	是 Yes	19-20	/	87	6.87	11.38	1.0
20			Dip B	108017894	是 Yes	21-22	22-54	100	9.37	13.27	5.5
21	富脯氨酸抗菌肽 Proline-rich, antifungal peptide	梅契尼科夫素 Metchnikowin/ Met	Met	108017949	是 Yes	25-26	/	29	10.98	5.97	3.0

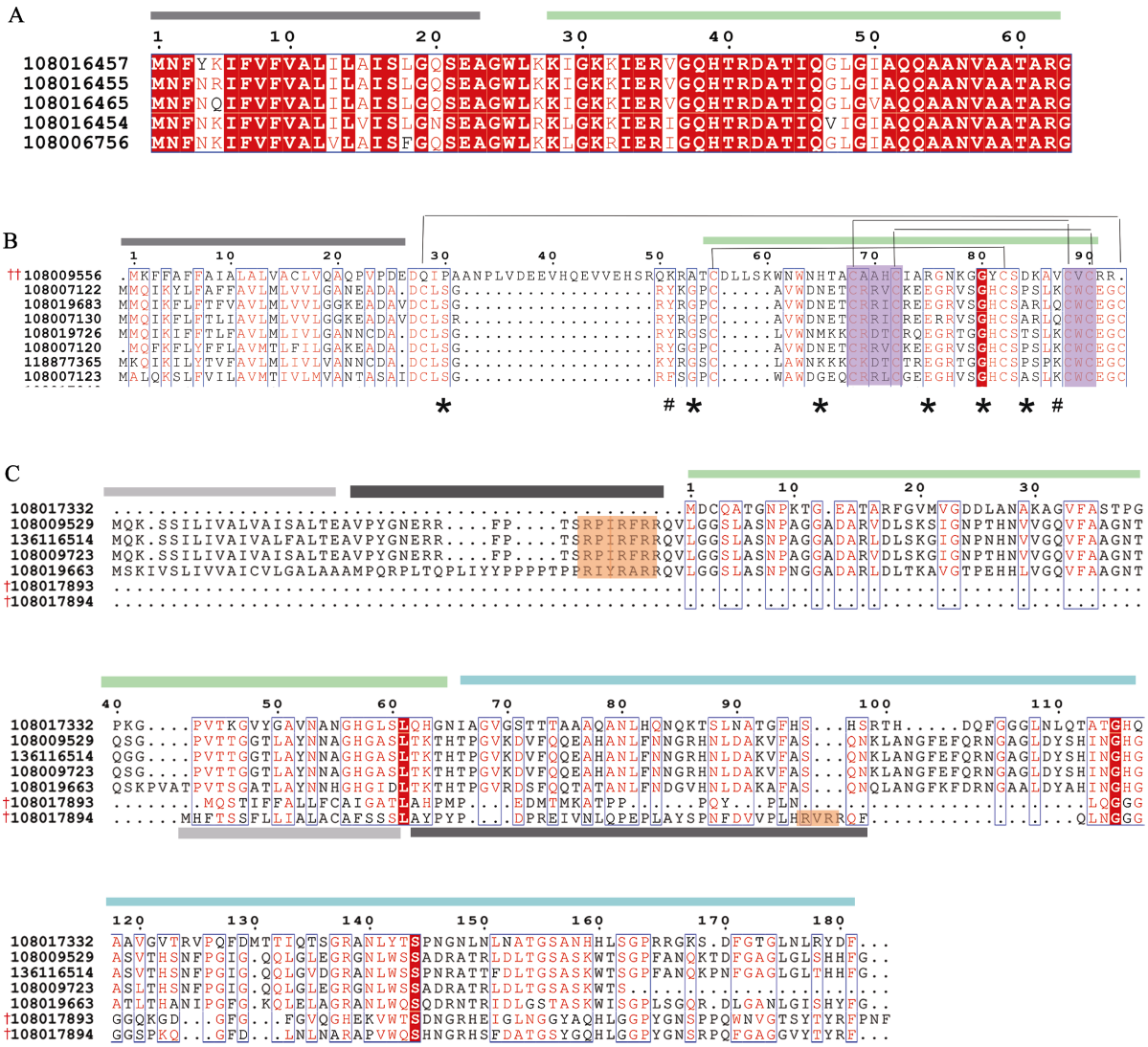

图 3　斑翅果蝇 Cecropin（A）、Drosomycin 与 Defensin（B）、Attacin 与 Diptericin（C）的多重比对

Fig. 3　Multiple alignment of Cecropin (A), Drosomycin and Defensin (B), Attacin and Diptericin (C) of *Drosophila suzukii*

*：保守的植物防御素特有氨基酸；#：保守的植物防御素芳香族氨基酸和第 38 位的碱基氨基酸；灰框：信号肽；深灰框：前肽。浅绿色及浅蓝色为保守结构域；阴影：保守基序。††：Defensin；†：Diptericin。

*: Conserved plant defensin specific amino acid; #: Conserved base amino acids at position 38 and aromatic amino acid of plant defense; Grey: Signal peptide; Dark grey: Propeptide; Light green and blue: Conserved domain; Shade: Conserved motif.

突变的氨基酸位点一致。斑翅果蝇的 2 个 *Diptericin* 基因，Diptericin A 与 B 之间的碱基相似度在 36.32%，分子量分别为 11.38 和 13.27 kD（表 2）。Diptericin A 只含有信号肽和 Attacin C 结构域，Diptericin B 则还含有前肽和裂解基序 RVRR。Metchnikowin 属于富脯氨酸抗菌肽，在斑翅果蝇基因组中只发现 1 种（表 2），含有信号肽和 Antimicrobial 10 superfamily 结构域，成熟肽为 29 个氨基酸。

2.4　斑翅果蝇抗菌肽系统发育分析

系统发育分析（图 4）可以将不同的抗菌肽种类区分为 3 个分支：第一分支包括 Attacin、Metchnikowin 和 Diptericin；第二分支包括 Drosomycin 和 Defensin；第三分支包括 Cecropin。斑翅果蝇 Cecropin 108016454 和 108006756 聚为一支后，与黑腹果蝇的 Cecropin 聚为一支；Metchnikowin （108017949）单独一支。斑翅果

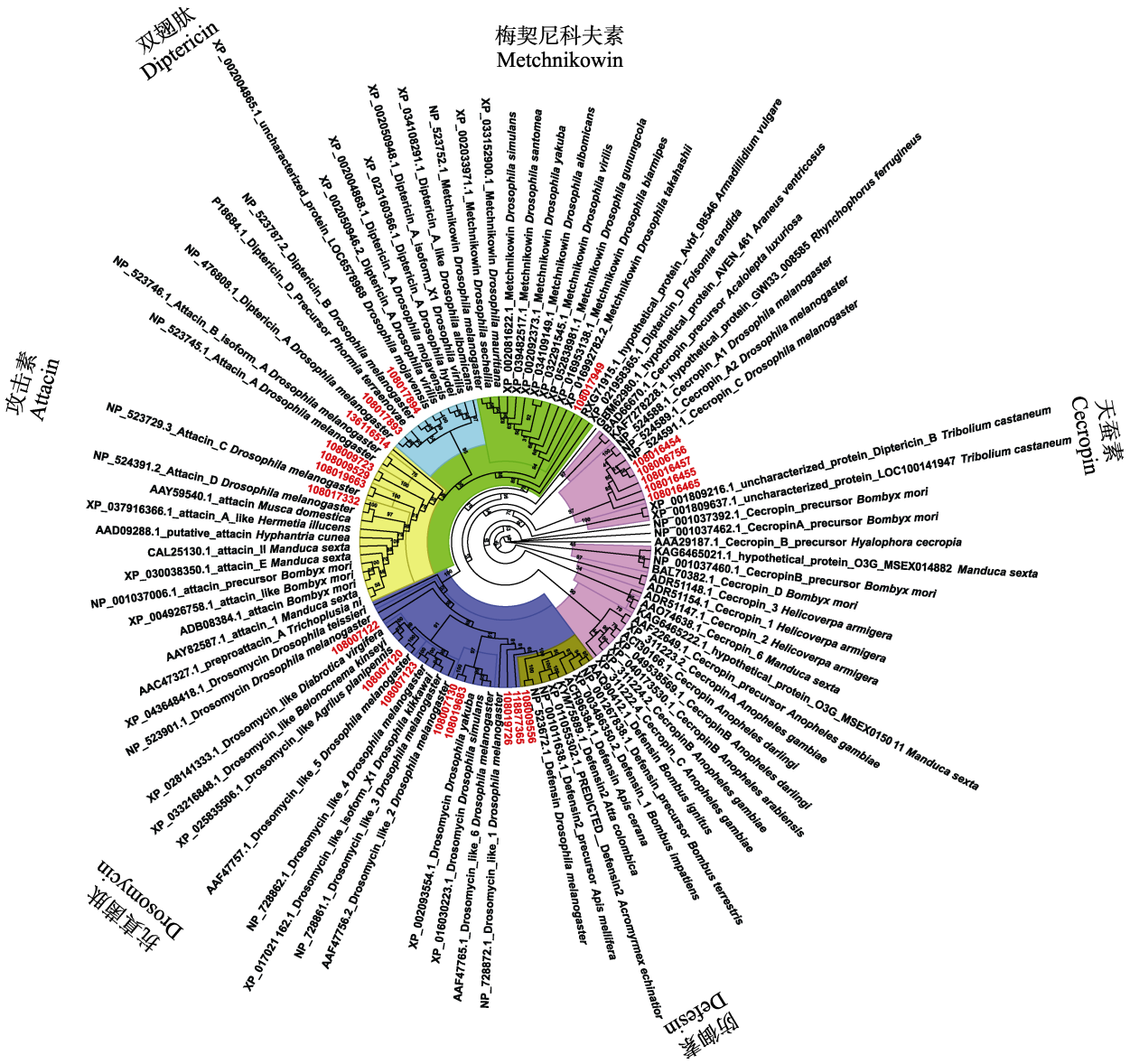

图 4　最大似然法构建的基于氨基酸序列的斑翅果蝇与其他物种的抗菌肽系统进化树

Fig. 4　Phylogenetic tree of antimicrobial peptide from *Drosophila suzukii* and other species constructed by maximum likelihood method based on amino acid sequence

斑翅果蝇抗菌肽基因以红色标注。自举值标注于枝干。

The genes from *D. suzukii* were marked as gene ID in red. The bootstrap values were marked on the branch.

蝇的 Diptericin 分别于黑腹果蝇的 Diptericin A 和 Diptericin B 聚为一支，且 Diptericin A 基因与新陆原伏蝇 *Protophormia terraenovae* 的 Diptericin D 亲缘关系比与斑翅果蝇 Diptericin B 基因的更近。Defensin（108009556）与黑腹果蝇的 Defensin 聚为一簇，Drosomycin like（108007123）和 Drosomycin（108007120）分别与黑腹果蝇的 Drosomycin like 4 和 Drosomycin like 5 成为一簇；但 Drosomycin 其它基因如 Drosomycin like（108019683）和 Drosomycin like（108007130）聚为一支，Drosomycin（108007122）、Drosomycin like（108019726）和 Drosomycin like（118877365）则单独成为一支。Attacin C（108019663）和 Attacin A（108017332）分别与黑腹果蝇的 Attacin C 和 Attacin D 聚为一支，Attacin A like（108009723）与 Attacin A（108009529）聚为一支，Attacin A（136116514）则与其它的 Attacin 基因亲缘关系较远，单独一支。

2.5　不同温度下斑翅果蝇主要抗菌肽基因表达分析

不同温度下基因表达谱进行的定量 PCR 分析发现，低温显著降低了斑翅果蝇幼虫 Diptericin A 的基因表达量；但对 Attacin 和 Cecropin 基因表达量无显著影响（表 3）。

表 3　不同温度下斑翅果蝇部分抗菌肽的基因相对表达量

Table 3　Relative expression profile of partial antimicrobial peptides of *Drosophila suzukii* at different temperature

温度（℃） Temperature (℃)	攻击素 A Attacin A (108009529)	攻击素 C Attacin C (108019663)	天蚕素 B Cecropin B (108016454)	天蚕素 C Cecropin C (108006756)	双翅肽 A Diptericin A (108017893)
14	0.214±0.083 A	0.215±0.035 A	0.300±0.030 A	1.923±1.656 A	0.033±0.008 B
18	0.012±0.003 A	0.193±0.079 A	0.510±0.490 A	1.989±1.668 A	0.006±0.003 B
22	0.603±0.213 A	0.815±0.410 A	1.180±0.680 A	1.415±0.460 A	0.630±0.207 A
F	$F_{2,5}$ = 4.685	$F_{2,6}$ = 1.217	$F_{2,6}$ = 0.896	$F_{2,9}$ = 0.052	$F_{2,6}$ = 8.664
P	0.071	0.360	0.456	0.950	0.017

表中数值为平均值±标准误，同列数据后标有不同字母表示差异显著（$P < 0.05$，Tukey 多重范围检验）。

Data in the table are presented as mean ± SE, and followed by different letters within the same column indicate significant difference ($P < 0.05$, Tukey's multiple range test).

3　结论与讨论

随着传统化学农药在害虫防治中的问题越来越突出，细菌、真菌和病毒等制备的环境友好型生物农药因其低毒、降解快和靶标性强等优势，在害虫防治中的地位越来越显著（Hezakiel *et al.*, 2024）。而明确昆虫与生防制剂的互作机理有助于田间微生物制剂的大面积高效使用，而且昆虫病理学研究一直是环境变化对昆虫种群影响的重要组成（Roy *et al.*, 2009; Pandey and Nichols, 2011）。本文发现斑翅果蝇各虫态抑菌效果受温度影响不同，且卵和幼虫的抑菌效果受温度的影响更显著；斑翅果蝇的抗菌肽组成与黑腹果蝇具有相似性，又具有种属特异性；但两者 Diptericin A 对温度的响应及潜在的功能具有相似性。该研究可为后续进行调控机制的系统研究提供基础数据。研究温度对其免疫功能的调控机制，对理解疾病与寄主相互作用的生理机制也有重要意义（Williams and Boyko, 2016）。

温度引起热激蛋白通路介导的热激或冷激反应，影响昆虫免疫响应（Liu *et al.*, 2017; Guz *et al.*, 2021）。黄粉虫 *Tenebrio molitor* 幼虫研究中也发现 18 和 22 ℃条件下抑制金黄色葡萄球菌的活性明显高于 26 和 30 ℃，推测是低温条件下昆虫脂肪含量升高加速抗菌肽的合成，增强了抑菌活性（陶淑霞等, 2014）。黑腹果蝇幼虫经过急性冷处理（Acute cold）可短期降低细菌清除能力，加速抗菌肽合成等潜在免疫能力（Salehipour-Shirazi *et al.*, 2017），即抗菌肽基因潜在表达弥补了已形成免疫（Realised immunity）。本研究也发现低温下斑翅果蝇幼虫对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的体外抑菌能力更强，推测这可能与不同温度下昆虫新陈代谢速度和脂肪含量有关；此外，22 ℃属于斑翅果蝇的生长适宜温度，此时斑翅果蝇幼虫可能将更多能量用于其生长发育（Mackay *et al.*, 2023）；但具体机制还需要进一步研究。

Hanson 等（2023）中描述的抗菌肽的组成和功能与宿主生态中微生物种类等环境因素有关。斑翅果蝇与黑腹果蝇虽然取食生态位相似，但斑翅果蝇偏好高度潮湿的环境，其栖息地中病原微生物如假单胞菌属 *Pseudomonas*、酵母菌属 *Candida* 的丰度较高（Leach *et al.*, 2016）。而取食过程中发酵或腐烂水果释放的化学气味的解毒过程需要抗菌肽参与（Kim *et al.*, 2022），但斑翅果蝇还可取食未成熟的果实，推测这可能是两

者抗菌肽组成类似但又有差异的原因。斑翅果蝇与黑腹果蝇抗菌肽种类和组成大致相同，但比黑腹果蝇抗菌肽多 1 个 *Attacin*；少 1 个 *Cecropin* 假基因和 *Drosocin* 基因。其中，Drosocin（基因号：108009724；蛋白登录号：XP_016929796.3）虽然在蛋白库中可以检索到，但在 SMART 和 Conserved Domain search 搜索均未发现保守结构域，故本研究未将比对到的 *Drosocin* 基因列为抗菌肽。黑腹果蝇 *Cecropin* 存在一条假基因和 2 个氨基酸序列完全一致的 Cecropin 蛋白。多重比对发现黑腹果蝇 Cecropin 存在 11 个氨基酸位点的突变，其中 5 个位点存在于信号肽内，这些与斑翅果蝇中的 Cecropin 组成和结构略有不同。黑腹果蝇的 Attacins、Cecropin C、Drosomycins 和 Defensin 等抗菌肽失调促进果蝇阿兹海默症的发病，也参与果蝇老化（Wang *et al.*, 2020）。斑翅果蝇的 Attacins、Drosomycin 和 Defensin 均与黑腹果蝇具有较近的亲缘关系，推测具有类似功能。

Attacin 和 Defensin 因具有广谱杀菌能力，是分布最广泛，研究较全面的抗菌肽种类。如刻克罗普斯蚕蛾 *Hyalophora cecropia* 的 Attacin 除参与神经调节外还可通过胞外免疫抑制病原菌扩增（Carlsson *et al.*, 1998）。丝光绿蝇 *Lucilia sericata* 中 Attacin 可促进人类慢性伤口愈合，黑水虻 *Hermetia illucens* 的 Attacin 可抑制抗甲氧苯青霉素金黄色葡萄球菌 KCCM 40881 繁殖（Wollina *et al.*, 2002; Shin and Park, 2019）。Attacin 抗菌活性除与净电荷有关外，还与参与抗菌反应的序列净电荷、疏水残基量有关（Buonocore *et al.*, 2021），其通过前肽裂解后获得具有抗菌活性的成熟肽起作用。斑翅果蝇的 Attacin 肽长度明显短于丝光绿蝇和黑水虻的 Attacin 长度，仅含有 169-190 个氨基酸。其中 Attacin A 108017332 与黑腹果蝇中 Attacin D 的结构相同，推测其只是胞外抗菌肽或无功能的等位基因（Hedengren *et al.*, 2000）。Zaidman-Rémy 等（2018）推测 Diptericin 和 Attacin 两者存在协同进化现象；Diptericin 可通过氨基酸替换的方式特异性的作用于特定菌株参与昆虫适应性进化（Hanson *et al.*, 2019, 2023），推测 Attacin 序列的氨基酸突变也具有类似功能。

斑翅果蝇 Diptericin A 与黑腹果蝇的 Diptericin A 的结构一致（Hedengren *et al.*, 2000），亲缘关系较近，推测两者功能相近。黑腹果蝇蝇诱导型抗菌肽 Diptericin A 是 Diptericin B 复制后进化获得，参与氧化应激诱导果蝇组织损伤（Zhao *et al.*, 2011）、低温下伤害形成（El-Saadi *et al.*, 2023）和抵御雷氏普罗威登斯菌 *Providencia rettgeri* 侵染（Hanson *et al.*, 2023）。定量发现斑翅果蝇的 Diptericin A 也可响应低温胁迫，推测该蛋白也可参与低温的免疫响应。斑翅果蝇 Drosomycin 108007122 和 108007120 含有的特定氨基酸位点，与植物防御素中参与维持蛋白结构稳定或蛋白折叠的氨基酸位点一致（Landon *et al.*, 2000）；而且 Drosomycin 保守的半胱氨酸残基形成二硫键，也可保证温度和 pH 变化时其蛋白活性稳定（Zhang and Zhu, 2009）；而斑翅果蝇 Defensin 肽结构中的 6 个保守的半胱氨酸残基与已报道的 Defensin（家族 I 型的抗菌肽）肽结构相同（Shafee *et al.*, 2016）；黑腹果蝇中，Metchnikowin 通过穿透细菌细胞作用于细胞内的目标来抑制其生长（Mangano *et al.*, 2023），参与调节睡眠和记忆等神经系统反应，其序列的 25 位点存在 P/R 的突变氨基酸，调控胁迫下的免疫反应和生活史的权衡（Perlmutter *et al.*, 2024）。而斑翅果蝇蛋白组 Metchnikowin 抗菌肽成熟肽第 25 位为 P，未发现有 R 位点存在，推测斑翅果蝇 Metchnikowin 具体作用机制可能与黑腹果蝇中的不同。

斑翅果蝇 Cecropin 基因成簇存在与在黑水虻 *Hermetia illucens* 一致（Peng *et al.*, 2024），Cecropin 的这种成簇表达、基因重复和分化特性有助于昆虫在抵抗致病菌入侵时，抗菌肽瞬时的高速表达（Lindsay *et al.*, 2018）。系统发育分析中发现 *Cecropin* 基因表现出显著的物种特异性，即相同物种的 Cecropin 更易聚为一支；推测是由于昆虫 *Cecropin* 基因重复、无功能和部分基因丢失等独立进化造成的（Carboni *et al.*, 2022; Guo *et al.*, 2023）。斑翅果蝇的 Cecropin 均与黑

腹果蝇的 Cecropin C（Hinge 位点为 G）亲缘关系更近，推测其功能可能与 Cecropin C 更相近。黑腹果蝇 Cecropin 中存在 DLG/SLG 等多种 Hinge 位点（Forfar *et al*., 2025），而斑翅果蝇 Cecropin 中只存在 GLV/VIG Hinge 位点。黑腹果蝇 Cecropin Hinge 位点的氨基酸突变直接影响其抵御布氏普罗维登斯菌 D（*Providencia burhodogranariea* D）的最小抑菌浓度（Forfar *et al*., 2025）。

抑菌反应作为昆虫免疫的重要组成，其受温度调控的研究还相对较少，对于其中的调控机制的报道更是不多见。本研究发现不同温度对斑翅果蝇不同虫态的抗菌活性有差异，且其抗菌肽组成和结构与黑腹果蝇略有不同，推测与两者的生态位差异有关。抗菌肽对温度胁迫的响应在多种昆虫中有报道，如高温 37 ℃导致黑水虻感染保护假单胞菌 Pf-5（*Pseudomonas protegens* Pf-5）后 Cecropin 的抑菌活性增强，其存活率上升；低温胁迫导致烟草甲 *Lasioderma serricorne* Defensin 转录水平升高，但 *Attacin* 和 *Cecropin* 基因表达量无变化（Zhang *et al*., 2024）等。但由于斑翅果蝇的序列普遍较短且同类抗菌肽间相似度较高，设计定量 PCR 引物的可选区域较少，无法获得专一的定量特异性引物，因此未开展全部抗菌肽转录水平对温度响应机制的研究。抗菌肽反应属于系统性免疫，推测在病原菌或温度胁迫入侵时，可通过多个抗菌肽共同作用。因此进一步通过 Taqman 探针设计特异性更强的引物，明确各抗菌肽的温度响应差异将有助于深入研究温度和病原菌侵入对昆虫免疫的作用机制。

参考文献 (References)

Ageitos JM, Sánchez-Pérez A, Calo-Mata P, Villa TG, 2017. Antimicrobial peptides (AMPs): Ancient compounds that represent novel weapons in the fight against bacteria. *Biochemical Pharmacology*, 133: 117–138.

Alinejad T, Bhassu S, Mustafa FB, Othman RY, 2020. Innate immune system response against environmental temperature changes as a dangerous abiotic factor. *Global NEST Journal*, 22(4): 522–534.

Brownlie J, Johnson K, 2009. Symbiont-mediated protection in insect hosts. *Trends in Microbiology*, 17(8): 348–354.

Buonocore F, Fausto AM, Della Pelle G, Roncevic T, Gerdol M, Picchietti S, 2021. Attacins: A promising class of insect antimicrobial peptides. *Antibiotics*, 10(2): 212.

Carboni AL, Hanson MA, Lindsay SA, Wasserman SA, Lemaitre B, 2022. Cecropins contribute to *Drosophila* host defense against a subset of fungal and gram-negative bacterial infection. *Genetics*, 220(1): iyab188.

Carlsson A, Nyström T, de Cock H, Bennich H, 1998. Attacin-an insect immune protein-binds LPS and triggers the specific inhibition of bacterial outer-membrane protein synthesis. *Microbiology*, 144(8): 2179–2188.

Chen CH, Lu TK, 2020. Development and challenges of antimicrobial peptides for therapeutic applications. *Antibiotics*, 9(1): 24.

Chen XX, Wang J, Yan WF, Li B, Zhou Q, Zheng YN, 2023. Olfactory taxis of *Drosophila suzukii* to host fruit and volatiles of host fruit. *Plant Protection*, 49(6): 55–62. [陈晓旭, 王珏, 晏文峰, 李斌, 周倩, 郑雅楠, 2023. 斑翅果蝇对寄主果实及其挥发物嗅觉趋性的研究. 植物保护, 49(6): 55–62.]

David JR, Araripe LO, Chakir M, Legout H, Lemos B, Pétavy G, Rohmer C, Joly D, Moreteau B, 2005. Male sterility at extreme temperatures: A significant but neglected phenomenon for understanding *Drosophila* climatic adaptations. *Journal of Evolutionary Biology*, 18(4): 838–846.

Donga TK, Baributsa D, 2023. Effect of temperature and insect infestation levels on oxygen depletion in hermetic storage. *Insects*, 14(7): 621.

Drummond F, Ballman E, Collins J, 2019. Population dynamics of spotted wing *Drosophila* (*Drosophila suzukii* Matsumura) in maine wild blueberry (*Vaccinium angustifolium* Aiton). *Insects*, 10(7): 205.

El-Saadi MI, MacMillan HA, Ferguson LV, 2023. Cold-induced immune activation in chill-susceptible insects. *Current Opinion in Insect Science*, 58: 101054.

Ferguson LV, Adamo SA, 2023. From perplexing to predictive: Are we ready to forecast insect disease susceptibility in a warming world? *Journal of Experimental Biology*, 226(4): jeb244911.

Forfar MJ, Feudale CR, Shaffer LE, Ginder GM, Duval ME, Vovsha M, Smith QB, Chambers MC, Smith SJ, 2025. Single amino acid changes impact the ability of *Drosophila melanogaster* cecropins to inhibit growth of *Providencia* pathogens. *ACS Omega*, 10(6): 5403–5414.

Garriga A, Mastore M, Morton A, Garcia del Pino F, Brivio MF, 2020. Immune response of *Drosophila suzukii* larvae to infection

with the nematobacterial complex *Steinernema carpocapsae-Xenorhabdus nematophila*. *Insects*, 11(4): 210.

Guo LZ, Tang M, Luo SQ, Zhou X, 2023. Screening and functional analyses of novel cecropins from insect transcriptome. *Insects*, 14(10): 794.

Guz N, Dageri A, Altincicek B, Aksoy S, 2021. Molecular characterization and expression patterns of heat shock proteins in *Spodoptera littoralis*, heat shock or immune response? *Cell Stress and Chaperones*, 26(1): 29–40.

Hanson MA, Grollmus L, Lemaitre B, 2023. Ecology-relevant bacteria drive the evolution of host antimicrobial peptides in *Drosophila*. *Science*, 381(6655): eadg5725.

Hanson MA, Lemaitre B, 2020. New insights on *Drosophila* antimicrobial peptide function in host defense and beyond. *Current Opinion in Immunology*, 62: 22–30.

Hanson MA, Lemaitre B, Unckless RL, 2019. Dynamic evolution of antimicrobial peptides underscores trade-offs between immunity and ecological fitness. *Frontiers in Immunology*, 10: 2620.

He NN, Zhou SJ, Zhou CM, Yang WK, Zhang S, Yan DQ, Ji XW, Liu W, 2025. Entomopathogenic *Bacillus cereus* impairs the fitness of the spotted-wing *Drosophila*, *Drosophila suzukii*. *Insect Science*, 32(3): 912–926.

Hedengren M, Borge K, Hultmark D, 2000. Expression and evolution of the *Drosophila* attacin/diptericin gene family. *Biochemistry Biophysic Research Communication*, 279(2): 574–581.

Hezakiel HE, Thampi M, Rebello S, Sheikhmoideen JM, 2024. Biopesticides: A green approach towards agricultural pests. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 196(8): 5533–5562.

Kim YH, Goh G, Kim YH, 2022. Expression of antimicrobial peptides associated with different susceptibilities to environmental chemicals in *Drosophila suzukii* and *Drosophila melanogaster*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 187: 105210.

Landon C, Pajon A, Vovelle F, Sodano P, 2000. The active site of drosomycin, a small insect antifungal protein, delineated by comparison with the modeled structure of Rs-AFP2, a plant antifungal protein. *The Journal of Peptide Research*, 56(4): 231–238.

Leach H, Van Timmeren S, Isaacs R, 2016. Exclusion netting delays and reduces *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) infestation in raspberries. *Journal of Economic Entomology*, 109(5): 2151–2158.

Lee JC, Wang X, Daane KM, Hoelmer KA, Isaacs R, Sial AA, Walton VM, 2019. Biological control of spotted-wing *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae): Current and pending tactics. *Journal of Integrated Pest Management*, 10: 13.

Lindsay SA, Lin SJH, Wasserman SA, 2018. Short-form bomanins mediate humoral immunity in *Drosophila*. *Journal of Innate Immunity*, 10(4): 306–314.

Liu YC, Su H, Li RQ, Li XT, Xu YS, Dai XP, Zhou YY, Wang HB, 2017. Comparative transcriptome analysis of *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae) reveals novel insights into heat stress tolerance in insects. *BMC Genomics*, 18(1): 974.

Mackay AJ, Yan J, Kim CH, Barreaux AMG, Stone CM, 2023. Larval diet and temperature alter mosquito immunity and development: Using body size and developmental traits to track carry-over effects on longevity. *Parasites Vectors*, 16(1): 434.

Makwana P, Rahul K, Ito K, Subhadra B, 2023. Diversity of antimicrobial peptides in silkworm. *Life*, 13(5): 1161.

Mangano K, Klepacki D, Ohanmu I, Baliga C, Huang W, Brakel A, Krizsan A, Polikanov YS, Hoffmann R, Vázquez-Laslop N, Mankin AS, 2023. Inhibition of translation termination by the antimicrobial peptide drosocin. *Nature Chemical Biology*, 19(9): 1082–1090.

Nwobodo DC, Ugwu MC, Anie CO, Al-Ouqaili MTS, Ikem JC, Chigozie UV, Saki M, 2022. Antibiotic resistance: The challenges and some emerging strategies for tackling a global menace. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 36(9): e24655.

Pandey UB, Nichols CD, 2011. Human disease models in *Drosophila melanogaster* and the role of the fly in therapeutic drug discovery. *Pharmacological Review*, 63(2): 411–436.

Peng J, Li L, Wan Y, Yang YF, An XQ, Yuan KX, Qiu ZL, Jiang YH, Guo G, Shen F, Liang GY, 2024. Molecular characterization and antimicrobial activity of cecropin family in *Hermetia illucens*. *Developmental and Comparative Immunology*, 152: 105111.

Perlmutter JI, Chapman JR, Wilkinson MC, Nevarez-Saenz I, Unckless RL, 2024. A single amino acid polymorphism in natural metchnikowin alleles of *Drosophila* results in systemic immunity and life history tradeoffs. *PLoS Genetics*, 20(3): e1011155.

Ren LM, Qin SN, Ding XT, Wan FH, Chu D, 2014. Research on the invasion and control of a fruit insect pest, *Drosophila suzukii* (Matsumura). *Journal of Biosafety*, 23(3): 142–150. [任路明, 秦胜楠, 丁心婷, 万方浩, 褚栋, 2014. 水果害虫铃木氏果蝇的入侵及其防控研究进展. 生物安全学报, 23(3): 142–150.]

Roy HE, Hails RS, Hesketh H, Roy DB, Pell JK, 2009. Beyond biological control: Non-pest insects and their pathogens in a changing world. *Insect Conservation and Diversity*, 2(2): 65–72.

Salehipour-shirazi G, Ferguson L, Sinclair B, 2017. Does cold

activate the *Drosophila melanogaster* immune system?*Journal of Insect Physiology*, 96: 29–34.

Shafee TMA, Lay FT, Phan TK, Anderson MA, Hulett MD, 2016. Convergent evolution of defensin sequence, structure and function. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 74(4): 663–682.

Shin HS, Park SI, 2019. Novel attacin from *Hermetia illucens*: CDNA cloning, characterization, and antibacterial properties. *Preparative Biochemistry Biotechnology*, 49(3): 279–285.

Srygley RB, Jaronski ST, 2022. Increasing temperature reduces cuticular melanism and immunity to fungal infection in a migratory insect. *Ecological Entomology*, 47(1): 109–113.

Tao SX, Tian YZ, Xiao Y, Huang HL, 2014. Effects of temperature on development and humoral immune defense of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) larvae. *Acta Entomologica Sinica*, 57(5): 616–620. [陶淑霞, 田宇璋, 肖月, 黄海龙, 2014. 温度对黄粉虫幼虫生长发育及体液免疫防御能力的影响. 昆虫学报, 57(5): 616–620.]

Tian Y, Li YH, Chen Q, Zhang JL, Chen GH, Zhang XM, 2024. Parasitic capacity of *Leptopilina japonica* to *Drosophila suzukii*. *Plant Protection*, 50(3): 146–154. [田烨, 李银湖, 陈强, 张金龙, 陈国华, 张晓明, 2024. 日本细毛环腹瘿蜂对斑翅果蝇的寄生效能. 植物保护, 50(3): 146–154.]

Vadim YK, Elena K, Oksana T, Olga P, Ulyana R, Maksim T, Tatyana A, Olga Y, Marsel K, Viktor G, 2020. Interplay between fungal infection and bacterial associates in the wax moth *Galleria mellonella* under different temperature conditions. *Journal of Fungi*, 6(3): 170.

Wang M, Peng IF, Li SM, Hu XD, 2020. Dysregulation of antimicrobial peptide expression distinguishes Alzheimer's disease from normal aging. *Aging*, 12(1): 690–706.

Williams JD, Boyko CB, 2016. Introduction to the symposium: Parasites and pests in motion: Biology, biodiversity and climate change. *Integrative and Comparative Biology*, 56(4): 556–560.

Wimalasiri-Yapa BMCR, Barrero RA, Stassen L, Hafner LM, McGraw EA, Pyke AT, Jansen CC, Suhrbier A, Yakob L, Hu WB, Devine GJ, Frentiu FD, 2021. Temperature modulates immune gene expression in mosquitoes during arbovirus infection. *Open Biology*, 11: 200246.

Wollina U, Liebold K, Schmidt WD, Hartmann M, Fassler D, 2002. Biosurgery supports granulation and debridement in chronic wounds-clinical data and remittance spectroscopy measurement. *International Journal of Dermatology*, 41(10): 635–639.

Xu PF, He Z, Gao XY, Zeng XR, Wei DW, Long XZ, Yu YH, 2025. Research on the expression of immune-related genes at different stages in the third-instar larvae of *Spodoptera frugiperda* infected by *Metarhizium rileyi*. *Insects*, 16(2): 199.

Yoon JS, Ahn SJ, Choi MY, 2023. Selection and comparative gene expression of midgut-specific targets for *Drosophila suzukii*. *Insects*, 14(1): 76.

Yuan WN, Wei YH, Guo JG, Liu YY, Zhang MJ, Guo ZJ, 2024. Effect of Bt induced immune sensitization on cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*) in relation to the cecropin (HacD) expression. *Plant Protection*, 50(4): 161–167. [袁伟宁, 魏玉红, 郭建国, 刘月英, 张美娇, 郭致杰, 2024. Bt 对棉铃虫天蚕素抗菌肽基因（HacD）转录的影响. 植物保护, 50(4): 161–167.]

Zaidman-Rémy A, Vigneron A, Weiss BL, Heddi A, 2018. What can a weevil teach a fly, and reciprocally? Interaction of host immune systems with endosymbionts in *Glossina* and *Sitophilus*. *BMC Microbiology*, 18(Suppl. 1): 279–292.

Zhang JP, Chen JH, Zhou CQ, Wang QH, Shi SS, Li YD, Zhang F, 2021. Damages of different blueberry cultivars caused by *Drosophila suzukii*. *Plant Protection*, 47(4): 191–196. [张金平, 陈菊红, 周长青, 王庆贺, 史树森, 李亚东, 张峰, 2021. 铃木氏果蝇对不同品种蓝莓为害情况调查. 植物保护, 47(4): 191–196.]

Zhang XF, Su Y, Dong XY, Liu YR, Zhou HX, Fan YJ, 2024. Genome-wide identification and expression-profiling analysis of the antimicrobial peptide genes in *Bactrocera dorsalis* (Hendel). *Journal of Tropical Biology*, 15(6): 672–682. [张小枫, 苏禹, 董欣怡, 刘月茹, 周洪旭, 范银君, 2024. 橘小实蝇抗菌肽全基因组鉴定和表达模式分析. 热带生物学报, 15(6): 672–682.]

Zhang Y, Yang JP, Smagghe G, Liu DD, Dai RH, Yang H, 2024. Antimicrobial peptides play important roles in innate immunity and recovery from chill coma in *Lasioderma serricorne*. *Entomologia Generalis*, 44(3): 695.

Zhang ZT, Zhu S, 2009. Drosomycin, an essential component of antifungal defence in *Drosophila*. *Insect Molecular Biology*, 18(5): 549–556.

Zhao HW, Zhou D, Haddad GG, 2011. Antimicrobial peptides increase tolerance to oxidant stress in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Biological Chemistry*, 286(8): 6211–6218.

Zhou LZ, Meng GL, Zhu L, Ma L, Chen KK, 2024. Insect antimicrobial peptides as guardians of immunity and beyond: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(7): 3835.