

亚致死剂量马拉硫磷和西维因对 飞蝗 P450 基因表达研究*

于荣荣 郭艳琼 张建珍 马恩波 郭亚平**

(山西大学应用生物研究所 太原 030006)

摘要 采用实时定量 PCR 技术检测飞蝗 *Locusta migratoria* 细胞色素 P450 基因 *CYP4G62*、*CYP6EL1* 和 *CYP9AQ1* 经马拉硫磷和西维因不同亚致死剂量和不同时间处理后 mRNA 的表达水平。结果表明,经马拉硫磷不同亚致死剂量 LD₁₀、LD₃₀ 和 LD₅₀ 处理后,飞蝗 *CYP4G62* 和 *CYP6EL1* 均在高剂量 LD₅₀ 被显著诱导,分别为对照的 3.03 和 2.0 倍,而在低剂量 LD₁₀ 无显著性差异。*CYP9AQ1* 在 3 个亚致死剂量下表达量均显著提高,且增量随处理浓度增加而降低。经西维因 3 个亚致死剂量处理后,除在 LD₃₀ 这一浓度下引起 *CYP4G62* 表达提高外,其它的 P450 基因均无显著性差异。选择 2 种农药的 LD₁₅ 对飞蝗进行点滴处理,分别检测 6、12、24 和 48 h 基因的相对表达。经马拉硫磷 LD₁₅ 处理后,除 *CYP6EL1* 在 12 h 和 *CYP9AQ1* 在 24 h 表达量显著降低外,其它各时间点基因表达均无显著差异。经西维因处理不同时间后,3 个 P450 基因的相对表达量均无显著性差异。综合上述结果说明马拉硫磷对 3 个细胞色素 P450 基因有一定的诱导作用,而西维因对其无诱导作用。

关键词 细胞色素 P450, 马拉硫磷, 西维因, 亚致死剂量, 诱导作用

Effect of sublethal doses of malathion and carbaryl on the P450 genes of *Locusta migratoria*

YU Rong-Rong GUO Yan-Qiong ZHANG Jian-Zhen MA En-Bo GUO Ya-Ping**

(Institute of Applied Biology, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract Two insecticides containing malathion and carbaryl were used to evaluate the possible effects of these compounds on the expression of *CYP4G62*, *CYP6EL1* and *CYP9AQ1* in *Locusta migratoria* as assessed by Real time PCR. LD₅₀ doses of both insecticides significantly increased the expression of *CYP4G62* and *CYP6EL1* compared to the control, but there was no significantly difference between treatments and control at LD₁₀ doses. Exposure of insects to three, sublethal, pesticide doses was followed by a significant, dose dependent increase in the relative expression of *CYP9AQ1*, but the increase in gene expression decreased with increasing pesticide concentration. Treatment with carbaryl only increased the relative expression of *CYP4G62* at LD₃₀, but had no effect on the other P450 genes. LD₁₅ was selected for a time effect experiment in which relative gene expression was measured at 6, 12, 24 and 48 h. After treatment with malathion at LD₁₅, the relative expressions of *CYP6EL1* and *CYP9AQ1* were significantly reduced at 12 and 24 h, whereas there was no change in the expression of *CYP4G62*. The relative expression of all three genes was unaffected by different duration of exposure to carbaryl. The results indicate that malathion, but not carbaryl, may stimulate the relative expression of all three P450 genes.

Key words cytochrome P450, malathion, carbaryl, sublethal doses, induction

飞蝗 *Locusta migratoria* 隶属于直翅目,蝗总科。其主要以禾本科和莎草科植物为食,是暴发性 and 迁飞性的农业重大害虫(朱恩林,1999),目前

化学防治仍是主要的防控手段。马拉硫磷作为高效、安全和广谱的低毒有机磷杀虫剂,常用于包括蝗虫在内的各种农业害虫的防治(杨红军等,

* 资助项目:国家自然科学基金项目(30810103907,31071980,31172161)、山西省自然科学基金项目(2011011033-1)。

** 通讯作者, E-mail: guoy1955@163.com

收稿日期:2011-11-09,接受日期:2011-12-20

2002)。20 世纪 50 年代,以西维因为代表的氨基甲酸酯类农药进入市场,成为继有机磷杀虫剂以后的第二主力军(乔广浩和刘欣,2010)。

细胞色素 P450 是生物体内一类重要的代谢酶系,广泛存在于所有生物中,如哺乳动物、鱼类、植物、节肢动物、真菌、细菌等(Montellano, 2005)。其主要功能是解毒外源性化合物,如农药、植物毒素、化学致癌物质和诱变剂等(Schule, 2011);代谢内源性化合物,如激素、脂肪酸和类固醇等(Li *et al.*, 2007),而其中一些外源性和内源性化合物可诱导昆虫细胞色素 P450 基因的表达(Terriere, 1984)。P450 的诱导是指某一生物暴露于某药物或其它异源物质后其体内细胞色素 P450 酶活水平和基因转录水平显著增加(Terriere, 1983; Batar *et al.*, 1997)。P450 的诱导具有时间和剂量效应,只有当诱导剂达到一定浓度并经过一段时间才会产生诱导作用(Nebert and Comlalez, 1989)。

细胞色素 P450 基因的诱导作用在多种昆虫中已有报道(Feyereisen, 2005)。目前,外源性化合物对细胞色素 P450 基因诱导作用的研究多集中于植物次生代谢物质除草剂及拟除虫菊酯类杀虫剂(Snyder and Glendinning, 1996; Phillip *et al.*, 1997; Danielson *et al.*, 1998; Ranasinghe *et al.*, 1999; Harrison *et al.*, 2001; Londono *et al.*, 2004; Bhaskara *et al.*, 2006; Jensen *et al.*, 2006; Willoughby *et al.*, 2006; Fang *et al.*, 2007; Poupardin *et al.*, 2010),部分文献报道了常用的其它有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂对 P450 的诱导作用(Dunkov *et al.*, 1997; 蒋红波和王进军, 2010),而马拉硫磷和西维因对细胞色素 P450 基因的诱导作用研究较少。作者实验室前期工作测定了飞蝗细胞色素 P450 基因经不同亚致死剂量

的农药处理后总酶活的变化,而特定的细胞色素 P450 基因经农药处理后的诱导作用尚未测定。本文选取 2 种常用的杀虫剂马拉硫磷和西维因处理飞蝗,分别测定了 3 个 P450 基因的相对表达量。为进一步研究飞蝗 P450 基因对杀虫剂解毒代谢提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

供试飞蝗卵购于河北沧州蝗虫饲养公司,孵化于人工气候培养箱中,L:D = 14:10,温度(30 ± 2)℃,相对湿度为 60%。选择同一时间孵化的 1 龄若虫转移到纱笼并置于培养箱中饲养,每天饲喂新鲜的小麦叶片,取 3 龄若虫进行实验。

1.2 供试试剂

马拉硫磷和西维因(美国 Chemical service 公司);RNA 提取试剂 RNAiso™ Plus 和 DNase I (RNase Free)(TaKaRa 公司);Revert Aid™ HMinus M-MuLV 反转录酶(Fermentas 公司);SYBR Premix^{Ex} Taq™ II(TaKaRa 公司)。

1.3 仪器设备

美国 ABI 7300 Real-time PCR system;德国 Eppendorf 移液枪;上海 BOXUN SPX 250I-C 型人工气候箱;法国 Jouan VXE380 超低温冰箱;玻璃匀浆器等。

1.4 引物设计与合成

根据已克隆得到的 3 个飞蝗 P450 基因 *CYP4G62*、*CYP6EL1* 和 *CYP9AQ1* 序列(另文发表),以肌动蛋白基因 β -actin 作为内参基因,采用 Primer 5.0 软件设计飞蝗的表达引物,引物由上海英潍捷基生物技术有限公司合成(表 1)。

表 1 *CYP4G62*、*CYP6EL1* 和 *CYP9AQ1* 的表达引物

Table 1 Primers used for expression analysis of *CYP4G62*, *CYP6EL1* and *CYP9AQ1*

基因 Gene	引物 Primers	序列 Sequence
<i>CYP4G62</i>	RT-F	AGGTGATTATCTTCTCCCTGCTG
	RT-R	GAATGTAGCCATAATAGTGCCTGTT
<i>CYP6EL1</i>	RT-F	CTGCACTATGACCCCCAGTACTT
	RT-R	GTGTAGCGACTGAGTAAACTGGC
<i>CYP9AQ1</i>	RT-F	CCTGGACCGAGAATGTGTGC
	RT-R	GTAGGTGAAGGGTTTCGATGAGC
β -actin	β -actin -F	CGAAGCACAGTCAAAGAGAGGTA
	β -actin-R	GCTTCAGTCAAGAGAACAGGATG

1.5 不同亚致死剂量马拉硫磷和西维因对 *CYP4G62*、*CYP6EL1* 和 *CYP9AQ1* 的影响

参照 Guo 等(2011)的方法分别配制不同亚致死剂量(LD_{10} 、 LD_{30} 和 LD_{50})马拉硫磷和西维因,以丙酮作为对照。选取大小一致、健康状况良好的飞蝗3龄2~3 d的若虫为实验材料,分别点滴不同浓度的马拉硫磷、西维因和丙酮各3 μ L于试虫的2、3腹节节间膜处,24 h后收取活虫,迅速于液氮冷冻后保存于 -80°C 冰箱中备用。每个处理设3个重复,每个重复15~20头飞蝗。

另选取生长一致的飞蝗3龄2~3 d若虫,分别用马拉硫磷和西维因 LD_{15} 各3 μ L点滴处理,于正常条件下饲养,各处理均于6、12、24和48 h后收取活虫,迅速于液氮冷冻后保存于 -80°C 冰箱中。以丙酮处理的作为对照,每个处理设3个重复,每个重复15~20头虫体。

1.6 杀虫剂处理飞蝗后 cDNA 模板的制备

按照 RNAiso Plus (TaKaRa) 提取说明书提取总 RNA 用于基因表达,检测定量后备用。依照 Reverse Transcriptase M-MLV (RNase H⁻) (TaKaRa)说明书,以提取的总 RNA 1 μ g 为模板,在 M-MLV 反转录酶作用下合成 cDNA 的第一链, -20°C 下保存备用。

1.7 飞蝗细胞色素 P450 基因在 mRNA 水平的表达

参照 SYBR Premix Ex TaqTM II 说明书,以合成的 cDNA 为模板加入荧光染料 SYBR Green I 在 ABI Prism 7300 进行实时荧光定量 PCR 扩增。20 μ L 的反应体系:去离子水 6 μ L;SYBR Green PCR mix (TaKaRa) 10 μ L;ROX 0.4 μ L;上下游引物各 0.8 μ L;1:20 稀释的 cDNA 模板 2 μ L。PCR 条件为:95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,95 $^{\circ}\text{C}$ 5 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 31 s 共 40 个循环,95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 1 min,95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s。采用 ABI Prism 7300 SDS 1.1 (Sequence detector system,美国应用生物系统公司)软件进行数据记录分析,阈值线由软件自动设定。每个样本 2 个技术重复。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法 (Pfaffl, 2001) 计算细胞色素 P450 基因经农药处理后的相对表达量。

1.8 数据处理与分析

数据处理方法采用 Duncan 和 *t*-test 分析, $P < 0.05$ 为基因的表达有显著性差异。

2 结果与分析

2.1 马拉硫磷和西维因对飞蝗 3 个 P450 基因的剂量效应

采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算 3 个基因 *CYP4G62*、*CYP6EL1* 和 *CYP9AQ1* 在不同剂量马拉硫磷和西维因处理的 3 龄飞蝗和对照中的相对表达水平(图 1)。2 种杀虫剂对飞蝗 P450 基因的影响不同,从图 1(A)可见,与对照相比,经不同亚致死剂量马拉硫磷处理 3 龄飞蝗后,*CYP4G62* 的 mRNA 相对表达量提高了 1.74~3.03 倍,在 LD_{50} 这一剂量下提高倍数最大,说明马拉硫磷在高剂量下对 *CYP4G62* 有显著的诱导作用;经西维因不同剂量处理 3 龄飞蝗后,仅在 LD_{30} 剂量下使 *CYP4G62* 的 mRNA 相对表达水平有显著性提高,其它剂量下没有明显的影响。

从图 1(B)可以看出,经马拉硫磷 3 个亚致死剂量处理飞蝗 3 龄若虫,随剂量的增加,*CYP6EL1* 的相对表达量呈现增加的趋势,在 LD_{50} 剂量下达到最大,与对照相比,其 mRNA 表达量提高了 2.06 倍,且有显著性差异。说明马拉硫磷在高剂量下对 *CYP6EL1* 同样有诱导作用;经西维因 3 个亚致死剂量处理飞蝗 3 龄若虫后,*CYP6EL1* 的相对表达量也随剂量增加呈现升高趋势,为对照的 0.91~1.55 倍,但无显著性差异。

从图 1(C)可见,不同剂量的马拉硫磷对 *CYP9AI* 均有显著的诱导作用,呈现从低浓度到高浓度诱导效应逐渐降低的趋势,在 LD_{10} 这一低剂量下其诱导倍数达到 7.65 倍;而不同剂量西维因对 *CYP9AQ1* 无明显的诱导作用。

2.2 马拉硫磷和西维因对飞蝗 3 个 P450 基因的时间效应

从图 2(A)可见,经马拉硫磷亚致死剂量 LD_{15} 处理后,飞蝗 *CYP4G62* 的相对表达量呈现先升高后降低的趋势,在 24 h 基因表达最高。在不同时间点与对照相比没有显著性差异;而经西维因亚致死剂量 LD_{15} 处理后,*CYP4G62* 的相对表达量在不同时间内与各自对照相比均有显著性提高,而每个时间点间 *CYP4G62* 的相对表达量无显著性差异。

从图 2(B)可见,经马拉硫磷亚致死剂量 LD_{15} 处理飞蝗后,*CYP6EL1* 的相对表达量呈现先降低

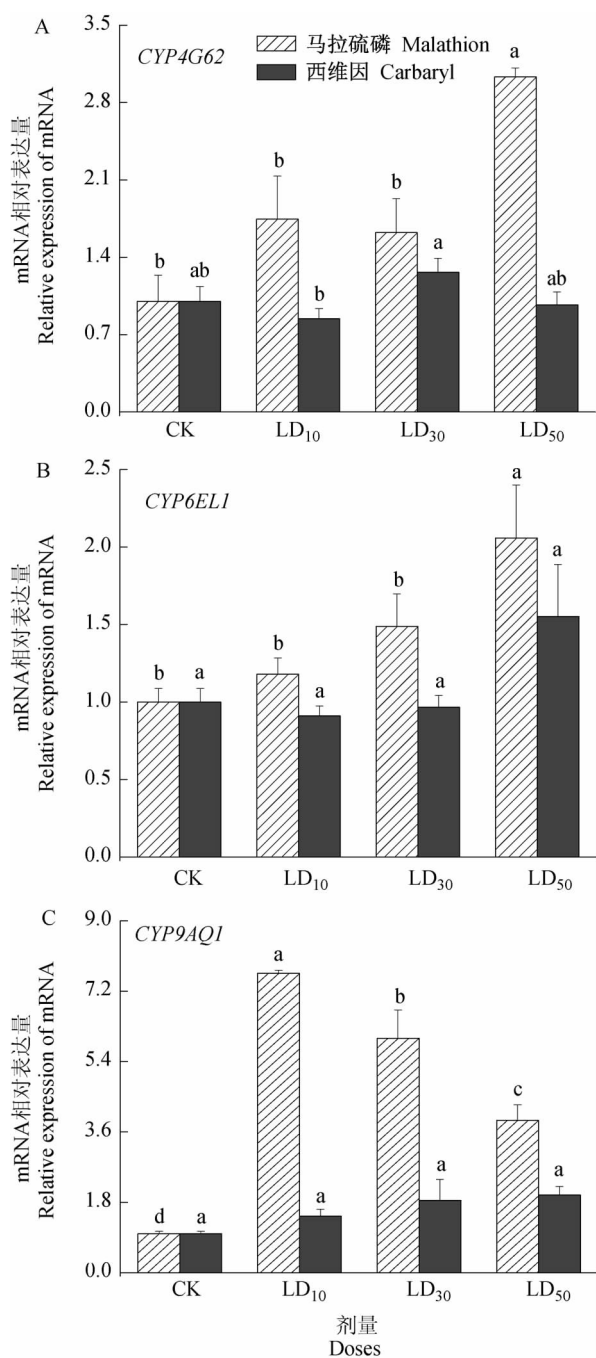


图1 不同亚致死剂量马拉硫磷和西维因处理后
3个P450基因的相对表达量

Fig. 1 Relative expression of P450 genes after
treatment by sub-lethal doses of malathion
and carbaryl

注:不同字母表示2种农药处理后基因相对表达量与
对照相比有显著性差异($P < 0.05$, Duncan 分析)。

Histograms with different letters indicate the expression of
three genes are significantly different with two insecticides
at 0.05 level by Duncan's multiple range test.

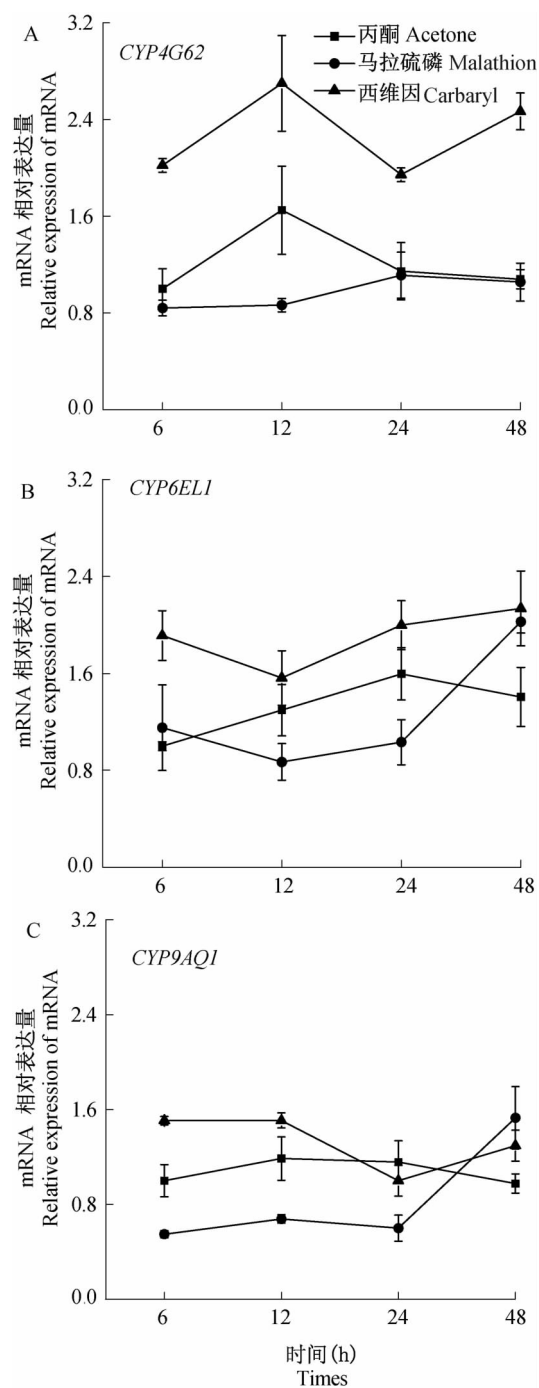


图2 马拉硫磷和西维因(LD₁₅)
处理后3个P450基因的时间效应

Fig. 2 Time course effects of malathion and
carbaryl (LD₁₅) on the relative
expression of three P450 genes

后升高的趋势,在48 h时基因表达量最高。处理
12 h后其表达被显著抑制,48 h后其相对表达量
回升到对照的2.5倍,但与各自的对照相比其表

达量并没有显著性差异;经西维因亚致死剂量 LD_{15} 处理后, *CYP6EL1* 的相对表达量迅速升高, 6 h 时与对照相比提高到 1.9 倍, 且差异显著, 随后 12 ~ 48 h 其表达量与对照相比均有所升高, 但无显著差异, 各时间点间 *CYP6EL1* 的相对表达量也没有显著性差异。

从图 2(C) 可见, 经马拉硫磷亚致死剂量 LD_{15} 处理后, 飞蝗 *CYP9AQ1* 基因的相对表达水平在 6 ~ 24 h 受到一定的抑制, 48 h 时基因表达水平显著提高。与对照相比, 12 h 时基因表达量显著下降, 为对照的 0.68 倍; 西维因亚致死剂量 LD_{15} 处理后, *CYP9AQ1* 基因的相对表达量迅速升高, 西维因处理 6 h 时表达量为对照的 1.5 倍, 随后 12 ~ 48 h 其表达量均无显著变化, 且各个时间点间也无显著性差异。

3 讨论

亚致死剂量杀虫剂不仅影响害虫的生长发育和繁殖, 也对害虫体内的解毒酶系产生诱导作用, 并为害虫抗药性进化提供持续的选择压力 (Chaton, 2001)。昆虫通过调控细胞色素 P450 酶活性和基因表达来应对外源性化合物 (Brown *et al.*, 2005)。本文选择 2 种常用于防治飞蝗的杀虫剂, 采用其亚致死剂量对飞蝗 P450 基因进行了剂量和时间效应影响的研究。本文选取的 3 个 P450 基因均可不同程度地被马拉硫磷诱导, 这与蒋红波和王进军 (2010) 用亚致死剂量有机磷杀虫剂甲基对氧磷处理嗜卷书虱 *Liposcelis bostrychophila* 后, 研究 5 个 P450 基因 (*CYP4CB1*、*CYP4CC1*、*CYP4CD1*、*CYP6CE1*、*CYP6CE2*), 其中 4 个细胞色素 P450 均可被甲基对氧磷显著诱导相一致。在许多情况下, P450 基因表达的增加可以导致 P450 蛋白和酶活性增加 (Brattsten *et al.*, 1986; Carino *et al.*, 1992; Liu and Scott, 1997; Feyerisen, 2005; Festucci-Buselli *et al.*, 2005)。Snyder 等 (1996) 发现用一定浓度的艾氏剂处理 5 龄天蛾 *Manduca sexta* 幼虫, 其中肠 P450 酶活性在 24 h 显著增加, Dunkov 等 (1997) 发现经有机磷艾氏剂和二嗪农处理, 果蝇 *Drosophila melanogaster* CYP6A2 酶活性增加, Rakotondravelo 等 (2006) 用毒死蜱不同亚致死浓度处理 1 龄摇蚊 *Chironomus tentans* 幼虫, 发现一定亚致死浓度的毒死蜱可以增加其 P450 酶活性。综合以上研究可见, 有机磷

农药对 P450 基因有一定的诱导作用。作者实验室 Guo 等 (2011) 发现飞蝗经马拉硫磷处理后 P450 总酶活性与对照相比没有显著性差异, 这一结果与 Yu (1984) 发现的草地粘虫 *Spodoptera frugiperda* 幼虫在取食含 0.025% 黄原毒素这种诱导物的人工饲料时, 其 P450 含量比对照显著增加, 而 4 种 P450 酶活性中的 3 种活性被抑制相类似, 表明某些 P450 被诱导的同时可能伴随着其它 P450 酶活性的抑制, 诱导和抑制存在协同机制 (邱星辉和冷欣夫, 1997)。Guo 等 (2011) 在测定马拉硫磷对 P450 酶活性影响中仅检测了细胞色素 P450 7-EC-O-脱乙基反应的总活性, 而并没有检测其它 P450 酶活性, 所以马拉硫磷是否诱导特定的 P450 酶活性需要进一步证实。

经西维因亚致死剂量处理后, 飞蝗 3 个细胞色素 P450 基因的表达量没有显著性差异, 仅在 LD_{30} 时 *CYP4G62* 的 mRNA 表达水平有所提高。经亚致死剂量 LD_{15} 处理后, 除 *CYP9AQ1* 基因在 24 h 表达量显著性提高外, 其余 P450 基因的相对表达量均无显著性差异, *CYP4G62*、*CYP6EL1* 和 *CYP9AQ1* 的相对表达水平在各时间点均无显著性差异, 表明西维因并没有诱导飞蝗体内 P450 基因的表达。这与蒋红波和王进军 (2010) 用亚致死剂量氨基甲酸酯类杀虫剂涕灭威处理嗜卷书虱后, 研究 5 个 P450 基因 (*CYP4CB1*、*CYP4CC1*、*CYP4CD1*、*CYP6CE1*、*CYP6CE2*), 其中 4 个细胞色素 P450 基因均没有明显的诱导作用相一致。

不同类型杀虫剂处理不同昆虫后, 诱导达到高峰的时间是不同的, 如家蝇 *Musca domestica* 成虫 P450 活性可以在接触杀虫剂数分钟后被诱导, 氯菊酯对埃及伊蚊 *Aedes aegypti*、冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae* 及家蝇的诱导均需经 24 h 后才能达到高峰 (Kasai and Scott, 2000; Poupardin *et al.*, 2008)。甲基对氧磷对嗜卷书虱的诱导也需 24 h 能达到高峰 (蒋红波和王进军, 2010)。本文经马拉硫磷处理后, P450 基因诱导达到高峰需要的时间多数在 48 h, 而西维因诱导达到高峰的时间多数在 24 h。造成诱导作用差异的因素可能与昆虫种类、龄期及药剂作用方式等有关。

Willoughby 等 (2006) 发现 *Cyp6G1*、*Cyp6A2* 和 *GstD1* 可以代谢和解毒 DDT, 但 DDT 却不能诱导这 3 个基因, 因此诱导、代谢和抗性三者之间没有直接关系。本文中马拉硫磷一定程度上诱导了 3

个 P450 基因,但对于 P450 基因是否代谢或解毒马拉硫磷尚不明确,需要进一步实验验证其功能作用。研究表明 P450 基因被诱导对于昆虫适应环境有重要作用(Terriere, 1983, 1984)。目前报道与抗药性相关的细胞色素 P450 基因多集中于 CYP4、CYP6、CYP9 和 CYP12 家族中(Feyereisen, 2006; Li *et al.*, 2007)。本文分别从飞蝗 CYP4、CYP6 和 CYP9 家族中选取 3 个特定的基因用 2 种常用的杀虫剂马拉硫磷和西维因不同亚致死剂量处理进而测定其相对表达量,为探讨飞蝗 P450 基因结构和功能的多样性提供了新思路,也为飞蝗防治中合理使用农药提供了基础资料。

参考文献 (References)

- Batar M, Schalk MA, Pierrel A, Zimmerlin FD, Werck RD, 1997. Regulation of the cinnamate 4-hydrolase (CYP73A1) in Jerusalem artichoke tubers in response to wounding and chemical treatments. *Plant. Physiol.* 113(3):951—959.
- Bhaskara S, Dean ED, Lam V, Ganguly RJ, 2006. Induction of two cytochrome P450 genes, *Cyp6a2* and *Cyp6a8*, of *Drosophila melanogaster* by caffeine in adult flies and in cell culture. *Gene*, 377:56—64.
- Brattsten LB, Lee YH, Keeley LL, 1986. Insecticide resistance: challenge to pest management and basic research. *Science*, 231(4743):1255—1260.
- Brown RP, McDonnell CM, Berenbaum MR, Schuler MA, 2005. Regulation of an insect cytochrome P450 monooxygenase gene (*CYP6B1*) by aryl hydrocarbon and xanthotoxin response cascades. *Gene*, 358:39—52.
- Cariño FA, Koener JF, Plapp FJ, Feyereisen R, 1992. Expression of the cytochrome P450 gene *CYP6A1* in the housefly, *Musca domestica*. *ACS Symp. Ser.*, 505:31—40.
- Chaton PF, Ravanel P, Meyran JC, Tissut M, 2001. The toxicological effects and bioaccumulation of fipronil in larvae of the mosquito *Aedes aegypti* in aqueous medium. *Pestic. Biochem. Phys.*, 69(3):183—188.
- Danielson PB, Foster JLM, McMahon MM, Smith MK, Fogleman JC, 1998. Induction by alkaloids and phenobarbital of Family 4 Cytochrome P450s in *Drosophila*: evidence for involvement in host plant utilization. *Mol. Gen. Genet.*, 259(1):54—59.
- Dunkov BC, Guzov VM, Mocelin G, Shotkoski F, Brun A, Amichot M, Ffrench-constant RH, Feyereisen R, 1997. The *Drosophila* cytochrome P450 gene *Cyp6a2*: structure, localization, heterologous expression, and induction by phenobarbital. *DNA Cell Biol.*, 16(11):1345—1356.
- Fang XK, Huang DF, Wang ZX, Wan CL, Sun T, Xu WJ, Liu CY, Zhou P, Qiao ZD, 2007. Identification of the proteins related to cytochrome P450 induced by fenvalerate in a *Trichoplusia in* cell line. *Cell Biol. Toxicol.*, 23(6):445—457.
- Festucci-Buselli RA, Carvalho-Dias AS, Caix-eta-Nunes C, Li HM, Stuart JJ, Muir W, Scharf ME, Pittendrigh BR, 2005. Expression of *Cyp6G1* and *Cyp12D1* in DDT resistant and susceptible strains of *Drosophila melanogaster*. *Insect Mol. Biol.*, 14(1):69—77.
- Feyereisen R, 2005. Insect cytochrome P450. *Comprehensive Molecular Insect Science*. Oxford:Elsevier. 1—77.
- Feyereisen R, 2006. Evolution of insect P450. *Biochem. Soc. Trans.*, 34:1252—1255.
- Guo YQ, Yan LZ, Zhang JZ, Ma EB, 2011. Comparative analysis of cytochrome P450-like genes from *Locusta migratoria manilensis*: expression profiling and response to insecticide exposure. *Insect Sci.*, 19(1):75—85.
- Harrison TL, Zangerl AR, Schuler MA, Berenbaum MR, 2001. Developmental variation in cytochrome P450 expression in *Papilio polyxenes* in response to xanthotoxin, a host plant allelochemical. *Arch. Physiol. Biochem.*, 48(4):179—189.
- Jensen HR, Scott IM, Sims S, Trudeau VL, Arnason JT, 2006. Gene expression profiles of *Drosophila melanogaster* exposed to an insecticidal extract of *Piper nigrum*. *J. Agric. Food Chem.*, 54(4):1289—1295.
- Kasai S, Scott JG, 2000. Overexpression of cytochrome P450 *CYP6D1* is associated with monooxygenase-mediated pyrethroid resistance in house flies from Georgia. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 68(1):34—41.
- Li X, Schuler MA, Berenbaum MR, 2007. Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. *Annu. Rev. Biochem.*, 52:231—253.
- Liu N, Scott JG, 1997. Phenobarbital induction of *CYP6D1* is due to a trans-acting factor on autosome 2 in house flies, *Musca domestica*. *Insect Mol. Biol.*, 6(1):77—81.
- Londono DK, Siegfried BD, Lydy MJ, 2004. Atrazine induction of a family 4 cytochrome P450 gene in *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae). *Chemosphere*, 56(7):701—706.
- Montellano DR, 2005. Cytochrome P450 Structure, Mechanism and Biochemistry. New York: Kluwer Academic/Plenum Press. 183—245.
- Nebert DW, Comlalez EJ, 1989. P450 gene: structure,

- evolution and regulation. *Annu. Rev. Biochem.*, 56:945—993.
- Pfaffl MW, 2001. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucl. Acids Res.*, 29 (9):2002—2007.
- Phillip B, Danielson, Ross J, Macintyre, James C, 1997. Molecular cloning of a family of xenobiotic-inducible drosophilid cytochrome P450s; evidence for involvement in host-plant allelochemical resistance. *PNAS*, 94 (20): 10797—10802.
- Poupardin R, Riaz MA, Vontas J, David JP, Reynaud S, 2010. Transcription profiling of eleven cytochrome P450s potentially involved in xenobiotic metabolism in the mosquito *Aedes aegypti*. *Insect Mol. Biol.*, 19 (2): 185—193.
- Poupardin R, Stephane R, Strode C, Ranson H, Vontas J, David JR, 2008. Cross-induction of detoxification genes by environmental xenobiotics and insecticides in the mosquito *Aedes aegypti*; impact on larval tolerance to chemical insecticides. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 38 (5): 540—551.
- Rakotondravelo ML, Anderson TD, Charlton RE, Zhu KY, 2006. Sublethal effects of three pesticides on activities of selected target and detoxification enzymes in the aquatic midge, *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae). *Arch. Environm. Contamin. Toxicol.*, 51 (3): 360—366.
- Ranasinghe C, Hobbs AA, 1999. Induction of cytochrome P450 CYP6B7 and cytochrome b5 mRNAs from *Helicoverpa armigera* (Hübner) by pyrethroid insecticides in organ culture. *Insect Mol. Biol.*, 8 (4): 443—447.
- Schuler MA, 2011. P450s in plant-insect interactions. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1814 (4): 36—45.
- Snyder MJ, Glendinning JJ, 1996. Causal connection between detoxification enzyme activity and consumption of a toxic plant compound. *J. Comp. Physiol. A*, 179 (2): 255—261.
- Terriere LC, 1983. Enzyme Induction, Gene Amplification and Insect Resistance to Insecticides. New York: Plenum Press. 265—298.
- Terriere LC, 1984. Induction of detoxification enzymes in insect. *Ann. Rev. Entomol.*, 29: 71—88.
- Willoughby L, Chung H, Lumb C, Robin C, Batterham P, Daborn PJ, 2006. A comparison of *Drosophila melanogaster* detoxification gene induction responses for six insecticides, caffeine and Phenobarbital. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 36 (12): 934—942.
- Yu SJ, 1984. Interactions of allelochemicals with detoxication enzymes of insecticide-susceptible and resistant *Fall armyworms*. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 22 (1): 60—68.
- 蒋红波, 王进军, 2010. 嗜卷书虱 P450 基因的分子生物学特性及其异源表达研究. 博士学位论文. 重庆: 西南大学.
- 乔广浩, 刘欣, 2010. 杀虫剂西维因毒性及雌激素活性进展研究. *环境科学与技术*, 33 (2): 99—105.
- 邱星辉, 冷欣夫, 1999. 昆虫细胞色素 P450 研究: P450 酶系的可诱导性. *昆虫知识*, 36 (1): 48—53.
- 杨红军, 王东升, 张立顺, 2002. 东亚飞蝗对马拉硫磷抗性研究初报. *植保技术与推广*, 22 (8): 11—12 转 16.
- 朱恩林, 1999. 中国东亚飞蝗发生与治理. 北京: 中国农业出版社. 3—558.