

褐飞虱基因 *BphMIF1* 克隆及表达分析*

叶穗** 冯佩 钟肖 马琪琪 曾曼 齐静雯
王香萍 杨亚珍 张建民***

(长江大学农学院, 荆州 434025)

摘要 【目的】克隆水稻重要害虫褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 唾液蛋白基因 *BphMIF1*, 探析 *BphMIF1* 在响应褐飞虱取食过程中的表达谱。【方法】采用 RT-PCR 法克隆了褐飞虱唾液蛋白基因 *BphMIF1*, 测序后对序列进行生物信息学分析, 使用实时荧光定量 PCR (qPCR) 对褐飞虱 1-5 龄若虫及成虫以及不同成虫虫体部位 *BphMIF1* 的表达量进行分析, 同时对 *BphMIF1* 进行了原核表达分析。【结果】克隆得到 *BphMIF1* 基因, 编码 119 个氨基酸。qPCR 结果表明 *BphMIF1* 基因在若虫 4 龄期表达会迅速上调, 在成虫的头、胸、腹均有表达, 以腹部表达量最高。原核表达结果显示褐飞虱 *BphMIF1* 基因以 0.5 mmol·L⁻¹ 的 IPTG 作为诱导浓度, 诱导时间为 4 h 表达效果较好。【结论】*BphMIF1* 基因在褐飞虱成虫头、胸、腹部均有表达, 在若虫不同发育历期其表达量有所差异且在 4 龄若虫时期表达量有显著上调。该结果可为 *BphMIF1* 在褐飞虱取食过程中的功能研究奠定基础。

关键词 褐飞虱; *BphMIF1*; qPCR; 原核表达

Gene cloning and expression analysis of the *Nilaparvata lugens* (Hemiptera:Delphacidae) *BphMIF1* gene

YE Sui** FENG Pei ZHONG Xiao MA Qi-Qi ZENG Man QI Jing-Wen
WANG Xiang-Ping YANG Ya-Zhen ZHANG Jian-Min***

(College of Agriculture, Yangtze University, Jingzhou 434025, China)

Abstract [Objectives] To investigate the expression profile of the saliva protein *BphMIF1* gene of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*, an important insect pest of rice, in response to the feeding activity of this species. [Methods] *BphMIF1* was cloned by RT-PCR and sequenced for bioinformatic analysis. The expression levels of *BphMIF1* in nymphs (1st-5th instars), adults and different adult body parts, were analyzed with real-time fluorescent quantitative PCR (qPCR), and the prokaryotic expression of *BphMIF1* was also quantified. [Results] The *BphMIF1* gene was cloned and found to encode 119 amino acids. qPCR results showed that *BphMIF1* was rapidly up-regulated in 4th instar nymphs. *BphMIF1* was expressed in the head, thorax and abdomen of adults, but was most highly expressed in the abdomen. Prokaryotic expression analysis showed that the *BphMIF1* gene was expressed at an induced concentration of 0.5 mmol/L IPTG for 4 h. [Conclusion] The *BphMIF1* gene is differentially expressed in different age groups and body parts of *N. lugens*. These results provide a theoretical basis for the functional study of *BphMIF1* in response to the feeding process of *N. lugens*.

Key words *Nilaparvata lugens*; *BphMIF1*; qPCR; prokaryotic expression

褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 属半翅目 (Hemiptera) 飞虱科 (Delphacidae) 昆虫, 是水稻上的重要害虫之一 (Bottrell and Schoenly,

2012), 主要通过刺吸式口器刺吸水稻汁液造成直接危害, 也可传播病毒或分泌蜜露造成间接危害 (李汝铎等, 1996)。一般情况下, 褐飞虱危

*资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金项目 (31471783)

**第一作者 First author, E-mail: 978052434@qq.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: 371995966@qq.com

收稿日期 Received: 2019-04-03; 接受日期 Accepted: 2019-07-30

害可导致水稻减产 15%以上,但在褐飞虱大发生的年份,水稻产量减产可高达 50%,因此,褐飞虱的危害一直是限制我国水稻产量的重要因素之一(黄水金和黄荣华,2001)。

刺吸式口器昆虫在取食植物的过程中常会分泌两种唾液:水状唾液和胶装唾液,胶装唾液会在取食早期形成唾液鞘来保护口针,而水状唾液中则常含有影响植物的防御响应的效应子和激活子(严盈等,2008)。激活子是诱导、激发植物对昆虫防御响应,如 FACs 基因,效应子则常抑制植物对刺吸式口器昆虫的防御响应,如葡萄糖氧化酶基因(汤金荣等,2018)。

MIF (Macrophage migration inhibitory factor, MIF) 在脊椎动物体内是重要的促炎细胞因子(Chen, 2015),由寄生于脊椎动物的寄生虫如线虫,跳蚤和原生动物分泌,可调节脊椎动物的免疫响应(Lindsay and Galloway, 1997; Esumin *et al.*, 1998; Augustijn *et al.*, 2007)。目前,在一些刺吸式口器昆虫的唾液蛋白中已陆续分离出 MIF 基因,如棉蚜 *Aphis gossypii*、柑橘木虱 *Diaphorina citri* 等,可以在不同程度上抑制植物对昆虫的防御响应(Calandra and Roger, 2003; Dubreuil *et al.*, 2014; Naessens *et al.*, 2015; 赵婵等, 2019)。

褐飞虱是重要的刺吸式口器害虫,但是关于其 MIF 基因的研究尚未见报道。因此,在采用同源序列分析基础上对褐飞虱的 *BphMIF1* 基因进行了克隆,在此基础上通过对 *BphMIF1* 基因的序列、若虫不同龄期及成虫不同虫体部位的表达谱及原核表达进行了分析。该研究可为探究 MIF 的功能及其作用机理奠定基础,同时可为水稻与褐飞虱的协同进化提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

褐飞虱长期饲养于长江大学昆虫分子生物学实验室恒温光照培养箱中,饲养条件为温度(27 ± 1)℃;相对湿度 80%±2%,光照周期为 14L:10D。水稻品种为 TN1(台中 1 号)。

1.2 主要试剂和菌株

pMD-18T 载体、RNA 提取试剂盒均购自大连 Takara 公司,大肠杆菌 *Escherichia coli* 菌株 Dh5a、BL21 感受态由本实验室提供。所用工具酶 RQ1 RNase-Free DNase 为 Promega 公司产品, M-MLV 反转录酶, DNA 聚合酶, T4 DNA 连接酶,限制性内切酶等均为 Takara 公司产品。

1.3 基因克隆

选取 2-3 头褐飞虱成虫,利用 RNA 提取试剂盒提取褐飞虱总 RNA, DNase 消化后反转录获成 cDNA。然后以其为模板进行 PCR 试验,扩增 *BphMIF1* 基因的开放阅读框,引物为: Forward: 5'-TTGGATCCATGCCGCTCCTCTGGA-3', Reverse: 5'-GCGTCGACTCAGCCAAATA-TTTCATGGAAAGTT-3'。反应体系共 15 μL: 6.4 μL ddH₂O, 7.5 μL Prime Star 高保真酶, 10.0 μmol·L⁻¹上下游引物各 0.3 μL 和 0.5 μL 模板。反应条件为:预变性 94℃ 3 min,变性 94℃ 30 s,退火 52℃ 30 s,72℃延伸 90 s,30 个循环,72℃延伸 10 min。PCR 结束后,用 1% 琼脂凝胶电泳分离并回收产物,然后连接转化 pMD-18T 克隆载体,转化大肠杆菌 DH5a 后摇菌,PCR 检测获得阳性克隆后摇菌送南京金斯瑞生物科技有限公司进行测序。

1.4 生物信息学分析

通过 Lasergene 7.0 对测序结果进行开放阅读框、蛋白编码、蛋白分子量及等电点等分析。然后利用 NCBI Blastx (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)搜索与褐飞虱 MIF 基因同源性较高的氨基酸序列,采用在线 Clustal W 软件进行氨基酸多序列比对(Larkin *et al.*, 2007),利用 MEGA7.0 软件中的邻接法构建系统发育树。

1.5 *BphMIF1* 基因的表达分析

分别选取 1-5 龄褐飞虱若虫 2-3 头(约 1 mg)提取总 RNA,然后以反转录后的 cDNA 为模板进行 qPCR,以检测不同龄期褐飞虱若虫 *BphMIF1* 基因的相对表达量。选取发育健康的褐飞虱成虫约 30 头,对虫体进行解剖,去掉触角、

翅和足, 收集解剖后的头、胸、腹部 (每处理约 5 mg) 提取其总 RNA, 然后反转录成 cDNA 进行 qPCR, 检测不同虫体部位褐飞虱 *BphMIF1* 基因的表达量。所有的反应体系均为 20 μL : 8 μL ddH₂O, 10 μL SYBR 酶, 10.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 上下游引物各 0.5 μL 和 1 μL 模板。扩增条件为: 预变性 94 $^{\circ}\text{C}$ 3 min; 变性 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s; 退火 52 $^{\circ}\text{C}$ 30 s; 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 90 s, 35 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。溶解曲线从 65 $^{\circ}\text{C}$ 到 90 $^{\circ}\text{C}$ 。引物同上。每组处理 3 个样品, 每个样品重复 3 次, 通过 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法进行计算。

1.6 *BphMIF1* 基因的原核表达

分别对 *BphMIF1* 的重组质粒 pMD 18T 与 pET 28a 空载体用 Sal I 和 Bam HI 进行双酶切, 然后利用 T4 DNA 连接酶进行载体与目的片段的重组连接, 转化大肠杆菌 BL21 感受态细胞, PCR 检测获得阳性克隆, 摇菌至 OD₆₀₀ 达到 0.4-0.6, 取 1 mL 菌液往里面加入 10 μL 的终浓度 1.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ IPTG 诱导, 同时取 1 mL 未加 IPTG 菌液为对照组, 分别在 25、28、31、34 和 37 $^{\circ}\text{C}$ 的恒温摇床以 250 r/min 震荡培养, 每间隔 1 h 取 2 种处理样 1 mL, 各 8 次筛选最佳诱导条件。将实验组和对照组的菌液转入 Ep 管中 5 000 r/min 离心 5 min, 回收菌体沉淀, 弃上清。分别加入 200 μL 预冷的 PBS (pH 7.4) 重悬菌体洗涤后 5 000 r/min, 离心 5 min, 回收菌体 (重复 3 次), 然后加入 40 μL 1 $\times$ SDS 上样缓冲液, 涡旋振荡器震荡 1 min, 使之完全溶菌, 将裂解后的菌液置于 100 $^{\circ}\text{C}$ 沸水中 5 min 后, 立即放置准备好的冰盒中冰浴冷却 5 min。在 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下, 12 000 r/min 离心 2 min, 取上清至新的离心管中, 即为上样液。然后制备 SDS-PAGE 凝胶, 待凝胶完全凝固后, 加入蛋白电泳缓冲液, 上样。接通电源, 起始电压 80 V、电流 20 mA, 待电泳至分离胶后电压调至 100 V、电流 30 mA。电泳至电泳槽底部停止电泳。小刀除去浓缩胶, 置摇床上染色 30 min, 脱色 3 h (脱色液变色后更换新的脱色液), 然后置于全自动凝胶成像仪中观察照相。

2 结果与分析

2.1 *BphMIF1* 基因的克隆

利用 Takara 试剂盒提取褐飞虱总 RNA 结果如图 1 所示。图中可见 2 条清晰条带 28S 和 18S, 表明褐飞虱总 RNA 质量完好。反转录成 cDNA 后以其为模板进行 PCR (图 2), 得到大约 300-400 bp 片段的高亮目的条带, 与之前对序列的预测结果相符。

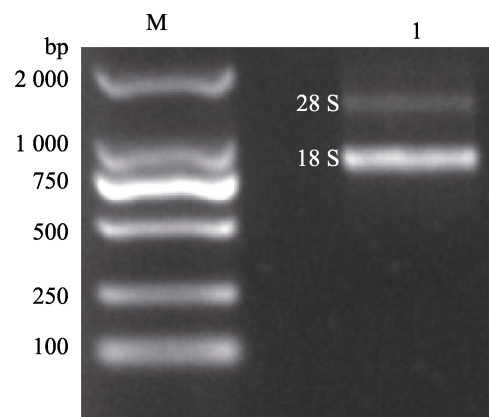


图 1 褐飞虱总 RNA 电泳图

Fig. 1 Electrophoretogram of total RNA of *Nilaparvata lugens*

M: DL2000 Marker; 1: 总 RNA。

M: DL2000 Marker; 1: Total RNA.

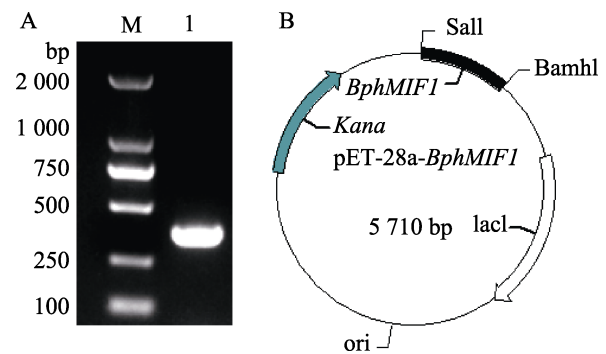


图 2 *BphMIF1* 基因 PCR 产物电泳图和原核表达载体构建

Fig. 2 PCR product electrophoretogram and vector construction of *BphMIF1* gene of *Nilaparvata lugens*

A. *BphMIF1* PCR 产物电泳图;

B. pET 28a-*BphMIF1* 载体。

BphMIF1 PCR product electrophoretogram;

pET 28a-*BphMIF1* vector.

M: DNA Marker DL2000; 1: *BphMIF1* PCR 产物。

M: DNA Marker DL2000; 1: *BphMIF1* PCR product.

2.2 *BphMIF1* 基因序列分析

将上述 PCR 产物进行凝胶回收, 连接 pMD 18T 克隆载体, 转化摇菌测序后得到 *BphMIF1* 基因的开放阅读框, 然后进行 BlastP 搜索, 结果显示该克隆为 MIF 家族基因, *BphMIF1* 基因的 cDNA 序列里含有一个完整 360 bp 的开放阅读框, 编码 119 个氨基酸, 预测分子量为 12.95 ku, 理论等电点为 7.239。序列比对结果显示褐飞虱

BphMIF1 与烟粉虱 MIF 基因的蛋白序列相似性最高(图 3), MEGA 7.0 分析显示褐飞虱 *BphMIF1* 与柑橘木虱、烟粉虱的 MIF 系统发育关系较近(图 4)。

2.3 *BphMIF1* 基因的时空表达分析

对褐飞虱 *BphMIF1* 基因在各个龄期及成虫期的表达量差异进行了分析。结果表明, 褐飞虱 *BphMIF1* 基因在各龄期中表达无显著性差异

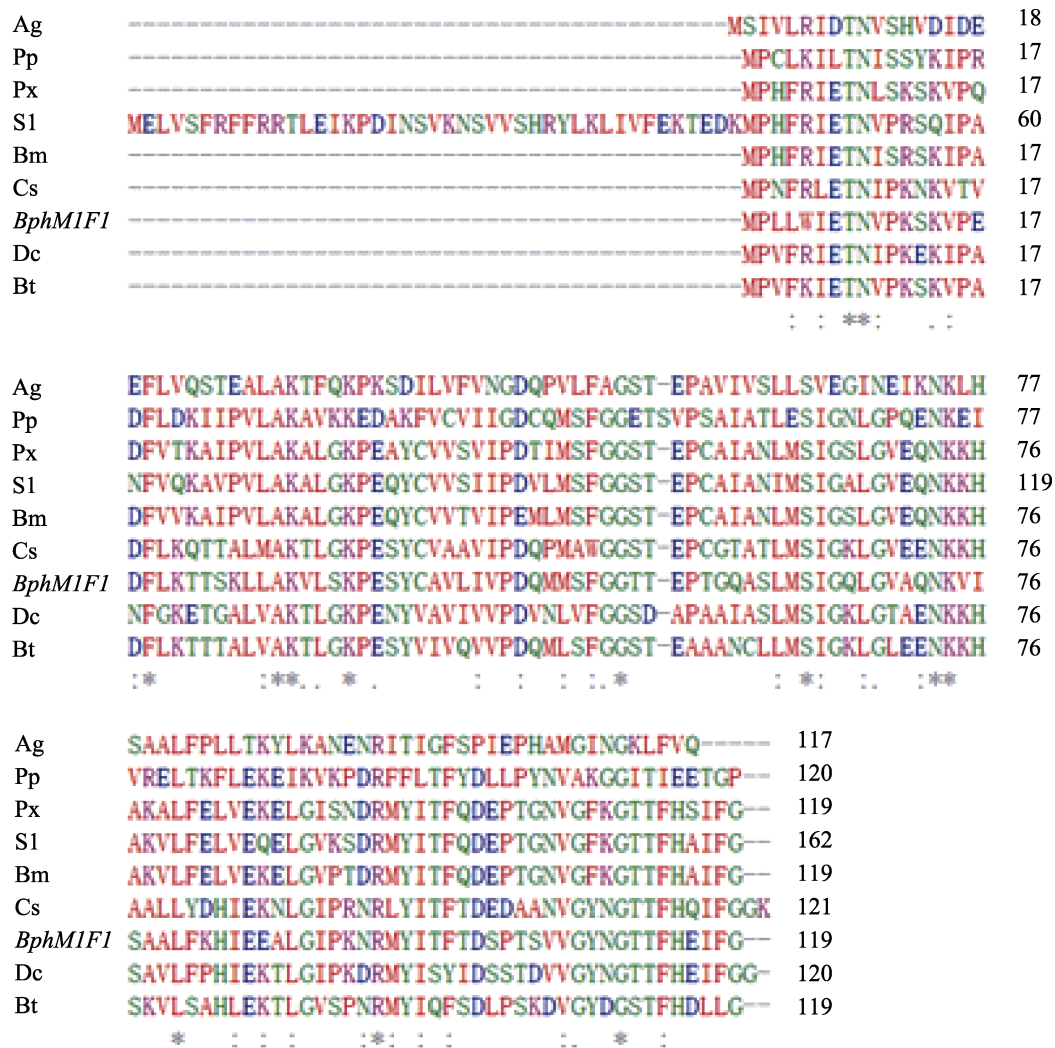
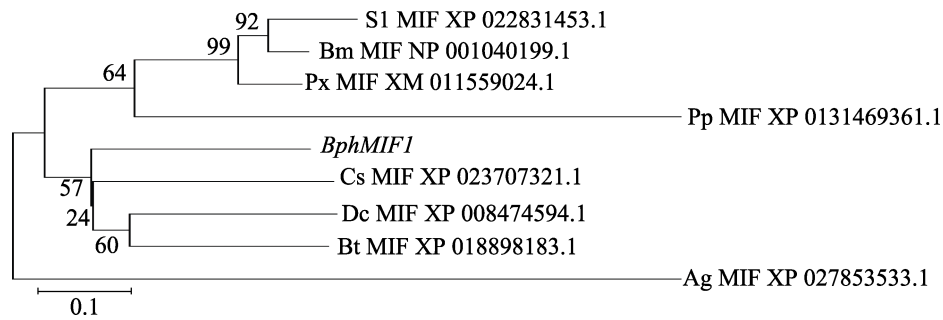


图 3 *BphMIF1* 与其它近缘物种 MIFs 的序列比对分析

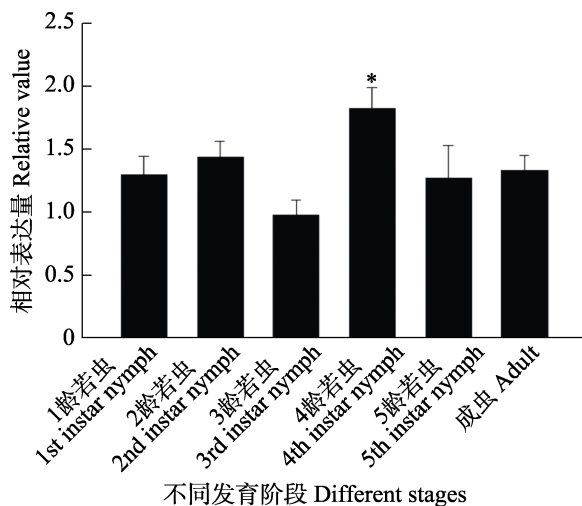
Fig. 3 Sequence comparison analysis of *BphMIF1* and MIFs of other species

Sl: 斜纹夜蛾 MIF XP 022831453.1; Bm: 家蚕 MIF NP 001040199.1; Px: 小菜蛾 MIF XM 011559024.1; Pp: 美凤蝶 MIF XP0131469361.1; Cs: 第二密隐翅虫 MIF XP 023707321.1; Dc: 柑橘木虱 MIF XP 008474594.1; Bt: 烟粉虱 MIF XP 018898183.1; Ag: 棉蚜 MIF XP 027853533.1。下同。

Sl: *Spodoptera litura* MIF XP 022831453.1; Bm: *Bombyx mori* MIF NP 001040199.1; Px: *Plutella xylostella* MIF XM 011559024.1; Pp: *Papilio polytes* MIF XP0131469361.1; Cs: *Cryptotermes secundus* MIF XP 023707321.1; Dc: *Diaphorina citri* MIF XP 008474594.1; Bt: *Bemisia tabaci* MIF XP 018898183.1; Ag: *Aphis gossypii* MIF XP 027853533.1. The same below.

图4 *BphMIF1* 氨基酸序列的系统进化发育树 (邻接法)Fig. 4 Phylogenetic tree of amino acid sequence from *BphMIF1* and MIFs of other species (Neighbor method)

($P>0.05$), 且在成虫期, 两翅型间的表达量也无显著性差异, 但在 4 龄末期时段, 其表达量较于其他龄期表达量偏高。推测原因可能是刺吸式口器昆虫发育至老熟若虫期, 需要大量营养, 取食量增大的过程中, 刺激其分泌更多的唾液, 从而导致 *BphMIF1* 基因上调表达 (图 5, 图 6)。

图5 *BphMIF1* 基因在褐飞虱不同发育阶段的表达Fig. 5 Expression of *BphMIF1* in different development stages of *Nilaparvata lugens*

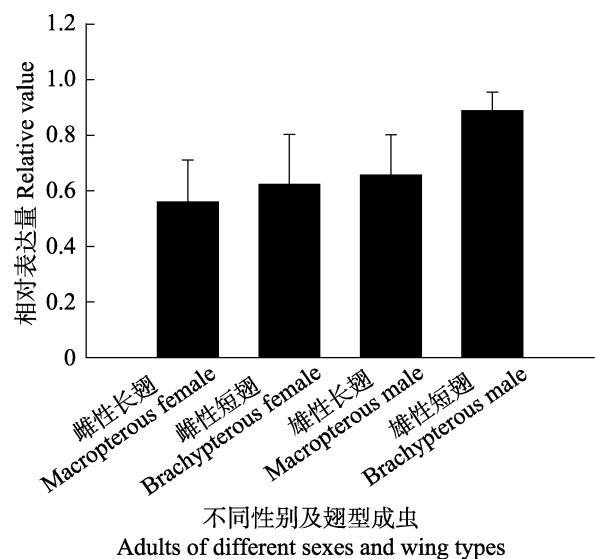
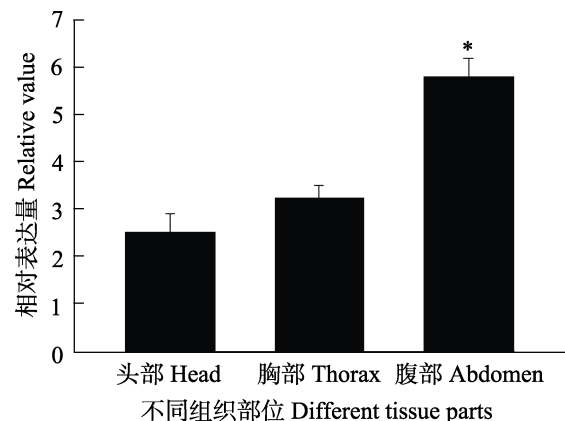
柱上标有*表示在 $P<0.05$ 水平上差异显著 (T-检验)。下同。

Histograms with * indicate significant difference at 0.05 level by T- test. The same below.

2.4 *BphMIF1* 基因的表达量

为了阐明 *BphMIF1* 在褐飞虱不同虫体部位的表达量, 对褐飞虱成虫头、胸和腹部 *BphMIF1* 基因的表达量进行分析。结果显示, *BphMIF1* 基因在褐飞虱腹部中表达高于其它部位, 且呈显

著性差异 ($0.05>P>0.01$), 但头部和胸部无显著差异 ($P>0.05$) (图 7)。

图6 褐飞虱 *BphMIF1* 基因在成虫发育阶段的表达Fig. 6 Expression of *BphMIF1* in adult development stages of *Nilaparvata lugens*图7 褐飞虱成虫不同虫体部位 *BphMIF1* 基因的表达Fig. 7 *BphMIF1* expression in different body parts of *Nilaparvata lugens* adult

2.5 *BphMIF1* 基因原核表达

构建了 *BphMIF1* 与 pET 28a 原核表达载体 pET 28a-*BphMIF1* (图 2: B) 后, 将 pET 28a *BphMIF1* 转化 BL21 大肠杆菌感受态, 小规模诱导表达后进行 SDS-PAGE 分析。结果显示: *BphMIF1* 蛋白在上清跟沉淀中均有所表达 (图

8)。在调整诱导条件后, *BphMIF1* 蛋白在 25 °C 或 28 °C, 0.5 mmol·L⁻¹ IPTG 诱导 4 h 后, 即可大量表达, IPTG 浓度调整至 1.0 mmol·L⁻¹ 时对表达量无明显影响。考虑到高浓度 IPTG 会抑制表达菌体的生长, 故选取 0.5 mmol·L⁻¹ 的 IPTG 作为最终诱导浓度, 诱导时间为 4 h (图 9)。

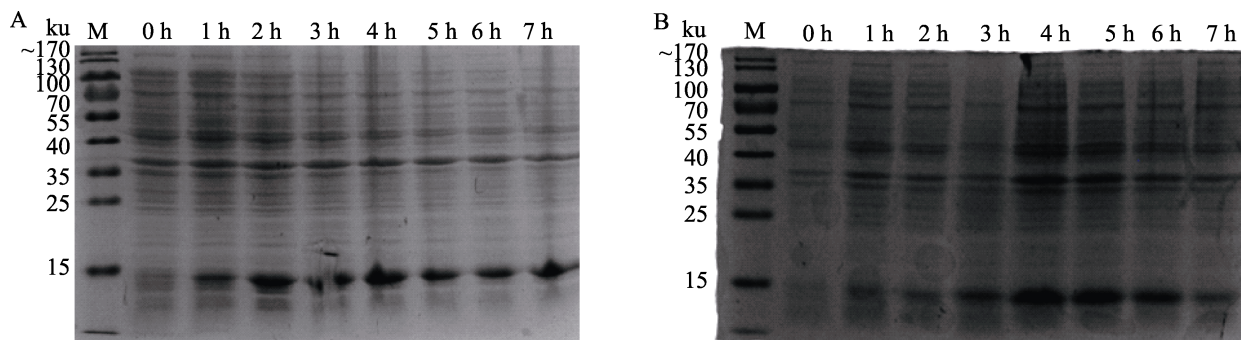


图 8 诱导时间和诱导温度对 *BphMIF1* 蛋白表达影响

Fig. 8 Impact of induction time and induction temperature on the expression of *BphMIF1* protein

A. 28 °C, 0.5 mmol·L⁻¹ IPTG 诱导; B. 25 °C, 0.5 mmol·L⁻¹ IPTG 诱导;

M: 10-170 ku 蛋白分子量标准。诱导时间均为 0-7 h 取样。

A. 28 °C, 0.5 mmol·L⁻¹ IPTG induction; B. 25 °C, 0.5 mmol·L⁻¹ IPTG induction;

M: 10-170 ku protein marker. IPTG induction for 0-7 h, respectively.

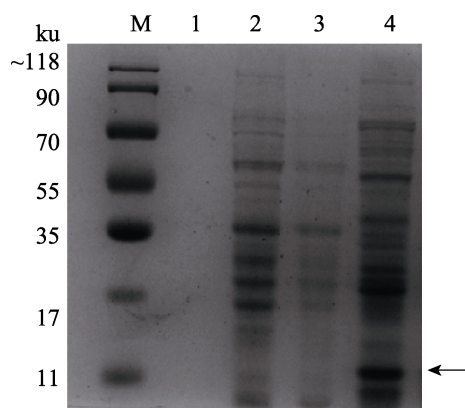


图 9 *BphMIF1* 蛋白在优化条件下的表达

Fig. 9 Expression under optimization conditions of *BphMIF1* protein

M: 118 ku 蛋白标准分子量, 1: 阴性对照 (—); 2: pET 28a 空载体转化全菌蛋白; 3: 未诱导 pET 28a 空载体转化全菌蛋白; 4: pET 28a *BphMIF1* 重组质粒转化菌全菌蛋白, 箭头表示诱导的 *BphMIF1* 融合蛋白。

M: 118 ku protein marker; 1: Negative control(—); 2: Total protein of pET 28a empty plasmid transformant; 3: Total protein of pET 28a empty plasmid without induction; 4: Total protein of pET 28a *BphMIF1* plasmid transformant, the arrows indicate the expressed *BphMIF1* fusion protein.

3 结论与讨论

本研究克隆了褐飞虱的一个 MIF 基因 *BphMIF1*, 含有一个完整 360 bp 的开放阅读框, 编码 119 个氨基酸, 预测分子量为 12.95 ku, 理论等电点为 7.239。经过氨基酸同源序列比对发现其具有高度保守性, 与已报道的柑橘木虱 *Diaphorina citri*、烟粉虱 *Bemisia tabaci* 等农业害虫体内的 MIF 基因发育关系最为接近。利用 qPCR 的方法检测了 *BphMIF1* 基因的表达情况, 不同发育阶段的结果表明, *BphMIF1* 在其 4 龄期表达量有明显上调, 同时原核表达分析显示诱导表达所得到的 MIF 蛋白与预测的 MIF 蛋白大小一致。

MIF 基因属于 MIF 分泌蛋白家族, 且已有研究表明, 来自不同物种间的相同 MIF 成员的序列相似性高于相同物种间的不同 MIF 成员相似性, 这个发现显著说明的 MIF 蛋白属于物种间高度保守的蛋白。同时, 在棉蚜 *Aphis gossypii*

与豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* 的 MIF 蛋白研究中发现, MIF 不仅存在于虫体的唾液腺中, 在整个虫体中均有所表达, 且唾液腺中的 MIF 基因表达占比不超过 50% (棉蚜约为 30%, 豌豆芽约为 10%)。MIF 基因还参与了植物在昆虫取食过程中诱导的防御响应反应, 如在 SA、JA 途径中, MIF 基因扮演了一个多重参与者的角色。在研究 MIF 参与信号通路的过程中还发现其可以降低植物胼胝质的积累, 削弱植物对昆虫的防御反应 (Naessens *et al.*, 2015)。*BphMIF1* 在褐飞虱 4 龄期表达量有显著上调, 推测原因可能是褐飞虱发育至老熟若虫期, 需要更多的营养, 在取食量加大的过程中, 分泌的唾液量增加, 从而导致 *BphMIF1* 基因上调表达, 加大了对水稻的防御响应的抑制, 使取食更为有利, 当然所有这些推论都有待于实验的验证。

目前, 水稻上的重要害虫依旧是飞虱类吸汁类害虫, 防治方法主要依靠喷洒化学农药, 这种方式既污染环境又易使害虫产生抗性, 对人类社会及环境保护有害无益。因此, 从分子层面深入解析褐飞虱与水稻的相互机理尤为重要。前人的研究表明, 刺吸式昆虫分泌的唾液在昆虫取食韧皮部汁液时会起到正向作用 (Mutti *et al.*, 2008; Ji *et al.*, 2017) 或反向作用 (Bos *et al.*, 2010; Chaudhary *et al.*, 2014), 研究刺吸式昆虫的唾液成分及功能重要且迫切。褐飞虱 MIF 基因功能至今尚未见报道, 而褐飞虱与蚜虫同属了半翅目刺吸式口器昆虫, 因而, 研究褐飞虱 MIF 基因的功能可以借鉴前人的方法与思路。本研究只对 MIF 基因进行了初步研究, 关于其功能及其作用机理有待于进行更为深入的研究。

参考文献 (References)

- Augustijn KD, Kleemann R, Thompson J, 2007. Functional characterization of the *Plasmodium falciparum* and *P. berghei* homologues of macrophage migration inhibitory factor. *Infection and Immunity*, 75(3): 1116–1128.
- Bos JI, David P, Macro P, Massimo E, Maffei J, Saskia W, Hogenhout A, 2010. A functional genomics approach identifies candidate effectors from the aphid species *Myzus persicae* (green peach aphid). *PLoS Genetics*, 6(11): e1001216.
- Bottrell DG, Schoenly KG, 2012. Resurrecting the ghost of green revolutions past: The brown planthopper as a recurring threat to highyielding rice production in tropical Asia. *Asia-Pac. Entomol.*, 15(1): 122–140.
- Calandra T, Roger T, 2003. Macrophage migration inhibitory factor: A regulator of innate immunity. *Nature Reviews Immunology*, 3(10): 791.
- Chaudhary R, Atamian HS, Shen ZX, Briggs SP, Kaloshian I, 2014. GroEL from the endosymbiont *Buchnera aphidicola* betrays the aphid by triggering plant defense. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 111(24): 8919–8924.
- Chen L, Zhou X, Fan L X, 2015. Macrophage migration inhibitory factor promotes cyst growth in polycystic kidney disease. *The Journal of Clinical Investigation*, 125(6): 2399–2412.
- Dubreuil G, Deleury E, Crochard D, 2014. Diversification of MIF immune regulators in aphids: Link with agonistic and antagonistic interactions. *BMC Genomics*, 15(1): 762.
- Esumi N, Budarf M, Ciccarelli L, Sellinger B, Akozak C, Wistow G, 1998. Conserved gene structure and genomic linkage for D-dopachrome tautomerase (DDT) and MIF. *Mammalian Genome*, 9(9): 753–757.
- Huang SJ, Huang RH, 2001. Some research progress of brown plant hopper in China. *Jiangxi Agricultural Journal*, 13(4): 43–50. [黄水金, 黄荣华, 2001. 我国褐飞虱的若干研究进展. 江西农业学报, 13(4): 43–50.]
- Ji R, Ye W, Chen H, Zeng J, Li H, Yu H, Li J, Lou Y, 2017. A salivary endo- β -1, 4-glucanase acts as an effector that enables the brown planthopper to feed on rice. *Plant Physiology*, 173(3): 1920–1932.
- Larkin MA, Blacksheilds G, Brown NP, 2007. Clustal W and Clustal X version 2. *Bioinformatics*, 23(21): 2947–2958.
- Lindsay LR, Galloway TD, 1997. Seasonal activity and temporal separation of four species of fleas (Insecta: Siphonaptera) infesting Richardson's ground squirrels, *Spermophilus richardsonii* (Rodentia: Sciuridae), in Manitoba, Canada. *Canadian Journal of Zoology*, 75(8): 1310–1322.
- Mutti NS, Louis J, Pappan LK, Pappan K, Begum K, Chen MS, Park Y, Dittmer N, Mashall J, Reese JC, Reeck GR, 2008. A protein from the salivary glands of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*, is essential in feeding on a host plant. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 105(29): 9965–9969.
- Naessens E, Dubreuil G, Giordanengo P, Baron OL, Mint-K N, Keller H, Coustau C, 2015. A secreted MIF cytokine enables aphid feeding and represses plant immune responses. *Current Biology*, 25(14): 1898–1903.
- Qi LZ, Huang FN, Huang JY, Li RD, 1991. Studies on management

- model of population life system of brownp lanthopper. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2(3): 214–220. [蔡立正, 黄方能, 黄建义, 李汝铎, 1991. 褐飞虱种群生命系统管理模型的研究. 应用生态学报, 2(3): 214–220]
- Tang JR, Dong SQ, Zhang XQ, Li WZ, Wang GP, Yuan GH, Guo XR, Zhao M, 2018. Advances in salivary elicitors and effectors of insects. *Central China Insect Research*, 14: 29–33. [汤金荣, 董少奇, 张新桥, 李为争, 王高平, 原国辉, 郭线茹, 赵曼, 2018. 昆虫唾液激发子和效应子研究进展. 华中昆虫研究, 14: 29–33.]
- Yan Y, Liu WX, Wan FH, 2008. The role of salivary components in the relationship between pricking insects and plants. *Acta Entomologica Sinica*, 51(1): 537–544. [严盈, 刘万学, 万方浩, 2008. 唾液成分在刺吸式昆虫与植物关系中的作用. 昆虫学报, 51(1): 537–544.]
- Zhao C, Zhang PJ, Yu LX, Yu XP, 2019. Advances in the adaptive plant defense responses of phytophagous insects. *Acta Entomologica Sinica*, 62(1): 124–132. [赵婵, 张蓬军, 余利星, 俞晓平, 2019. 植食性昆虫适应植物防御反应的研究进展. 昆虫学报, 62(1): 124–132.]



草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* (Smith)成虫

草地贪夜蛾隶属于鳞翅目 (Lepidoptera) 夜蛾科 (Noctuidae) 原产地为美洲热带和亚热带气地区。2016 年入侵非洲, 2018 在亚洲的印度首先发现并在南亚和东南亚快速扩散到周边国家, 2019 年 1 月入侵中国云南并迅速扩散到 20 多个省区。

草地贪夜蛾成虫在美洲有规律地一年从北向南迁飞 1 次, 产卵前期广泛扩散。成虫可进行长距离的飞行, 成虫一晚可飞行超过 100 km, 一个世代成虫可借助气流迁飞 500 km。草地贪夜蛾成虫可以取食多种植物的花蜜。

(张润志, 中国科学院动物研究所)