研究论文

NlAKT 调控褐飞虱适应抗性水稻的功能研究*

赖晓凤** 袁龙宇** 孙靓雯 肖汉祥 戴阳朔 李燕芳*** 张振飞***

（广东省农业科学院植物保护研究所，广东省植物保护新技术重点实验室，广州 510640）

摘 要 **【目的】** 褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 是水稻的重要害虫，对水稻的生产造成严重破坏。本文旨在明确褐飞虱 *NlAKT* 基因对褐飞虱取食和繁殖的影响。**【方法】** 基于褐飞虱基因组获得 *NlAKT* 的全长开放阅读框（Open reading frame, ORF）序列并通过软件分析 NlAKT 的蛋白序列；利用 RT-qPCR 技术分析其时空表达模式，最后通过 RNA 干扰（RNA interference, RNAi）的方法，分析 *NlAKT* 对 *NlVg* 和 *NlVgR* 基因表达水平的影响，研究 *NlAKT* 对褐飞虱取食、卵巢发育和卵巢内脂滴的影响。**【结果】** 分析 *NlAKT* 的蛋白序列发现 *NlAKT* 具有 Akt 蛋白的特征，有 2 个保守结构域（分别为 PH_PKB、STKc_PKB）。RT-qPCR 结果表明 *NlAKT* 在各个发育阶段均有表达，在卵巢组织和成虫期高表达。对 *NlAKT* 进行 RNAi 后，*NlAKT* 的表达降低了 88%（P<0.05）；沉默 *NlAKT* 后褐飞虱的蜜露量和获得性体重分别降低了 51.6%和 146.0%（P<0.05），取食孔数量增加了 56.4%（P<0.05），这些指标与对照相比均有显著差异；此外沉默 *NlAKT* 后 *NlVg* 和 *NlVgR* 基因的表达水平分别降低了 41.4%和 59.3%（P<0.05），使卵巢发育延迟，卵巢内脂滴的大小和分布异常。**【结论】** *NlAKT* 在褐飞虱各发育阶段和组织均有表达，沉默 *NlAKT* 基因的表达后降低褐飞虱的取食，抑制卵巢的发育，并影响卵巢中脂滴的大小。这些结果表明 *NlAKT* 可调控褐飞虱的取食和繁殖。

关键词 褐飞虱；时空表达；RNA 干扰；卵巢发育；生物测定

The role of *NlAKT* in regulating the adaptation of the brown planthopper to resistant rice

LAI Xiao-Feng** YUAN Long-Yu** SUN Jing-Wen XIAO Han-Xiang
DAI Yang-Shuo LI Yan-Fang*** ZHANG Zhen-Fei***

(Guangdong Provincial Key Laboratory of High Technology for Plant Protection, Institute of Plant Protection, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China)

Abstract **[Aim]** To clarify the role of the *NlAKT* gene in the feeding and reproduction of the brown planthopper (BPH), *Nilaparvata lugens*, an important insect pest of rice. **[Methods]** The full-length open reading frame (ORF) sequence of *NlAKT* was obtained based on the BPH genome, and its protein sequence was analyzed using bioinformatics software. RT-qPCR technology was used to investigate its spatiotemporal expression pattern. Finally, RNA interference (RNAi) methodology was used to determine the effect of *NlAKT* on the expression of the *NlVg* and *NlVgR* genes, along with its effects on feeding, ovarian development, and lipid droplet accumulation in the ovaries. **[Results]** The *NlAKT* protein sequence contains characteristic Akt protein domains, including two conserved domains (PH_PKB and STKc_PKB). RT-qPCR results indicate that *NlAKT* is expressed in all tissues and developmental stages, with higher expression in ovarian tissues and during the adult stage. RNAi significantly reduced *NlAKT* expression by 88% (P < 0.05). Silencing *NlAKT* led to a 51.6% decrease in honeydew excretion, a 146% reduction in acquired body weight (P < 0.05), and a 56.4% increase in the number of feeding pores (P < 0.05). All the above parameters were significantly different from those of the control group. Furthermore,

*资助项目 Supported projects：国家自然科学基金项目（32202308 和 32172507）；广州市科技计划项目（2024A04J4517）；广东省农业科学院人才培养计划青年研究员项目；广东省现代农业产业技术体系创新团队建设项目（2024CXTD05）

**共同第一作者 Co-first authors，E-mail：1791269943@qq.com；yuanlongyu@gdaas.cn

***共同通讯作者 Co-corresponding authors，E-mail：328159805@qq.com；zhangzhenfei@gdaas.cn

收稿日期 Received：2025-06-16；接受日期 Accepted：2025-09-19

knockdown of *NlAKT* reduced the expression of the *NlVg* and *NlVgR* genes by 41.4% and 59.3%, respectively ($P < 0.05$), resulting in delayed ovarian development and abnormal size and distribution of lipid droplets within the ovaries. **[Conclusion]** *NlAKT* is expressed across all developmental stages and tissues of the brown planthopper. Silencing the *NlAKT* gene reduced feeding behavior, inhibited ovarian development, and affecting lipid droplet size in the ovaries. These results indicate that *NlAKT* regulates feeding and reproduction in the BPH.

Key words　*Nilaparvata lugens*; spatiotemporal expression; RNA interference; ovarian development; bioassay

褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 是迁飞性水稻害虫，其通过刺吸水稻韧皮部汁液为食，对水稻生产构成严重威胁。该害虫具有极强的繁殖能力，在适宜条件下，单头雌虫可产卵 500 -1 000 粒，且每年可繁殖数代（Sogawa，2003; 余德涛，2007）。研究表明，雌虫的繁殖能力依赖于卵黄原蛋白（Vitellogenin, Vg）的合成以及其通过卵黄原蛋白受体（Vitellogenin receptor, VgR）被卵母细胞摄取的过程（罗娟，2013）。此外，VgR 在褐飞虱的卵巢成熟过程中发挥重要作用，且在许多研究中与 *NlVg* 作为褐飞虱繁殖力的分子标记共同使用（Lu *et al*., 2015; Qiu *et al*., 2016; Pang *et al*., 2017; Lu *et al*., 2018）。

近几十年来，关于昆虫繁殖力的调节机制已经做了一些工作，发现卵黄原蛋白 Vg、与营养代谢相关的胰岛素通路因子，以及参与蜕皮类固醇生物合成的 *halloween* 基因家族成员，均在大多数昆虫的卵母细胞成熟与胚胎发育调控中发挥了重要的作用(Badisco *et al*., 2013; Zhuo *et al*., 2017; Bao and Zhang, 2019）。蛋白激酶 B（PKB/AKT），属于丝氨酸/苏氨酸激酶家族，是 PI3K/AKT 通路的关键效应蛋白，该激酶能够介导胰岛素信号传导过程，参与调控葡萄糖转运，从而对生殖功能产生重要影响。研究表明，AKT 通过调节内源性激素的生物合成途径，参与调控昆虫生殖系统的发育过程（Riddiford，1994; Parthasarathy *et al*., 2010）。在烟草甲 *Lasioderma serricorne* 中，通过 RNAi 技术抑制 *LsAKT* 的表达，导致蛋白质合成、糖摄取与代谢以及信号通路中相关基因的表达水平均显著下降。这种下调效应干扰了烟草甲的脂质合成和糖摄取，进而阻碍了其卵巢发育和繁殖能力（Xu *et al*., 2021）。研究表明，干扰嗜虫书虱 *Liposcelis entomophila* 的 *LeAkt* 基因表达，会显著降低 Vg 的表达水平，并明显阻碍和卵巢发育（Lu *et al*., 2023）；此外，RNA 干扰介导的 *FoAKT* 敲低降低了 Vg 的含量和表达，降低了西花蓟马 *Frankliniella occidentalis* 的繁殖力（Qiu *et al*., 2024）；对大草蛉 *Chrysopa pallens* 的 *CpAKT* 基因进行基因沉默后，其卵黄原蛋白基因 *Vg* 的表达水平明显降低，引发卵巢发育异常，导致大草蛉的繁殖力显著下降（Han *et al*., 2020）。这些研究表明，AKT 在糖代谢过程、生长发育中扮演着重要的角色。

本研究探讨了褐飞虱 *NlAKT* 的时空表达模式，并运用 RNAi 技术分析了该基因对褐飞虱取食行为、繁殖相关基因（*NlVg* 和 *NlVgR*）表达水平的影响；此外，本研究还观察了 *NlAKT* 对褐飞虱卵巢发育以及卵巢内脂滴的影响，为褐飞虱适应抗性水稻的相关研究提供更多的理论基础。

1　材料与方法

1.1　水稻与昆虫材料

本研究中采用的感虫水稻品种 TN1 和抗虫品种 IR36 以及褐飞虱种群由广东省农业科学院植物保护研究所提供。所有试验材料均在人工气候箱（RDN-300D-2，宁波东南仪器有限公司）内培育，培养条件设置为温度（26±0.5）℃、相对湿度 80%±5%、光照周期 14L：10D。供试水稻为生长 30 d 的幼苗，供试褐飞虱均为 1 日龄短翅雌性成虫。

1.2　主要试剂药品

赛默飞世尔科技（中国）的 MEGAscript® RNAi Kit、天根生化科技(北京)的 RNAprep Pure Tissue Kit、宝日医生物技术（北京）的 Premix Taq™(Ex Taq™ plus dye)、宝日医生物技术(北

京）的 Prime Script™ RT reagent Kit、天根生化科技（北京）的 Universal DNA Purification Kit、宝日医生物技术（北京）的 DNA marker 2000。

1.3 褐飞虱总 RNA 提取和 cDNA 合成

采用 Trizol 法提取褐飞虱雌成虫的总 RNA，经 NanoDrop2000 超微量紫外分光光度计测定浓度、电泳验证质量后，使用逆转录试剂盒（*TransScript*® One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis Superix with gDNA Eraser）将上述 Total RNA 反转录为 cDNA，于 - 20 ℃冰箱保存，用于后续的 qPCR 检测。

1.4 褐飞虱 *NlAKT* 基因的 RNAi

1.4.1 dsRNA 的合成 针对褐飞虱 *NlAKT* 基因的 ORF 区，根据 dsRNA 引物设计原则，设计 dsRNA 的特异性引物。按照 T7 Ribo-MAXTM Express RNAi System（P1700, Promega, USA）试剂盒说明书合成 dsRNA。具体用于 dsRNA 合成的引物信息见表 1。

表 1 本研究所用引物

Table 1 Primers used in this study

引物名称 Primer name	引物序列（5′-3′） Primers sequences（5′-3′）
Q*NlAKT*-F	GTGAAGGACCCGAACAA
Q*NlAKT*-R	TCACCTGTGGCTTGAATAG
Q*NlVg*-F	GCATCAATGAACCCAGCTAACTC
Q*NlVg*-R	TGGACGGCTCTTTGCATACTCC
Q*NlVgR*-F	AGGCAGCCACACAGATAACCGC
Q*NlVgR*-R	AGCCGCTCGCTCCAGAACATT
Q*Nlactin*-F	ATGAAACCGTCTACAACTCG
Q*Nlactin*-R	GCATCCTGTCGGCAATAC
ds*NlAKT*-F	GGATCCTAATACGACTCACTATAGGACCAACCATCCGTTCCTAAT
ds*NlAKT*-R	GGATCCTAATACGACTCACTATAGGATCGTCCGCACATCATCTCA
ds*GFP*-F	GGATCCTAATACGACTCACTATAGGTGAATTAGATGGTGATGTTA
ds*GFP*-R	GGATCCTAATACGACTCACTATAGGTCACCTTCAAACTTGACTTC

下划线部分为 T7 启动子序列。

The underlined portion is the T7 promoter sequence.

1.4.2 显微注射 将 1 日龄短翅褐飞虱雌性成虫用 CO_2 麻醉，腹部朝上固定于 1%琼脂糖平板上，用玻璃毛细管（World precision instruments, USA）制作的毛细管针在褐飞虱的第一步足和第二步足之间的柔软部位注射。ds*NlAKT* 注射浓度为 400 ng/μL，并且注射等量的 ds*GFP* 作为对照。将注射处理后的褐飞虱置于 IR36 水稻植株上，并放回培养箱继续饲养。分别在 24、48 和 72 h 时随机选取 3 头试虫，提取其总 RNA 与逆转录后，利用 qPCR 技术检测其 *NlAKT* 基因的 mRNA 表达水平。

1.5 荧光定量 PCR

以合成的 cDNA 为模板，在 CFX96 Real-Time PCR 检测系统（BioRad, USA）上使用 prime PCRtrument（Genstar, Beijing, China）试剂进行 RT-qPCR 分析。采用两步 RT-PCR 程序，条件如下：95 ℃，初始变性 2 min，然后 95 ℃ 15 s，60 ℃ 30 s，循环 40 次。以 *Nlactin*（GenBank: EU179848）为内参基因，标准化基因转录水平。用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算相对基因转录水平。用的引物序列见表 1。

1.6　RNAi 后卵巢发育的变化

分别随机选取空白对照组 Control、ds*GFP* 注射组和 ds*NlAKT* 注射组处理 72 h 后的褐飞虱各 10 头，进行卵巢解剖。解剖所得的卵巢经 PBS 缓冲液洗涤后，于体视显微镜下进行形态观察并拍照记录。

1.7　注射 ds*NlAKT* 后褐飞虱蜜露量和获得性体重的检测

将称重过的 Parafilm 袋子（7 cm×7 cm）固定在水稻茎秆下部，每袋接入 1 头褐飞虱。待取食 24 h 后，移除褐飞虱后重新称重，两次称重差值即为褐飞虱分泌蜜露量。同时，比较褐飞虱取食前后的体重变化，计算获得性体重。该实验每组处理设置 10 个生物学重复。

1.8　取食孔的检测

把单株水稻放在长 10 cm 直径 2 cm 的圆形玻璃管内，每管放 1 头雌成虫，用海绵封口，24 h 后去除褐飞虱，剪取褐飞虱取食过的水稻茎秆，将茎秆样品置于曙红 Y 染液中浸染 12 h，随后在体视显微镜下观察并拍照。该实验每组处理设置 10 个生物学重复。

1.9　数据分析

本研究运用 Excel 2019（Microsoft, USA）统计并整理数据，使用 SPSS 20 软件（IBM, USA）对数据进行分析，根据分析结果利用 Prism 8.0 软件（GraphPad software, USA）制作图表。实验数据采用平均值±标准误（Standard error, SE）来表示，采用单因素方差法分析（One-way ANOVA）显著性，多重比较采用 Duncan 氏新复极差法分析 *NlAKT* 的时空表达特性。

2　结果与分析

2.1　褐飞虱 *NlAKT* 基因的序列特征

NlAKT（GenBank 登录号: XM_039437451.1）基因全长序列为 1 727 bp，编码 534 个氨基酸，其开放阅读框为 1 605 bp。应用 Computer PI/Mw Tool 软件（http://web.Expasy.Org/compute-pi/）分析预测 *NlAKT* 蛋白的预计分子量为 60.2 kD，pI 为 5.97。通过软件预测 NlAKT 蛋白具有 Akt 蛋白的特征，有 2 个保守结构域（分别为 PH_PKB, STKc_PKB）（图 1）。

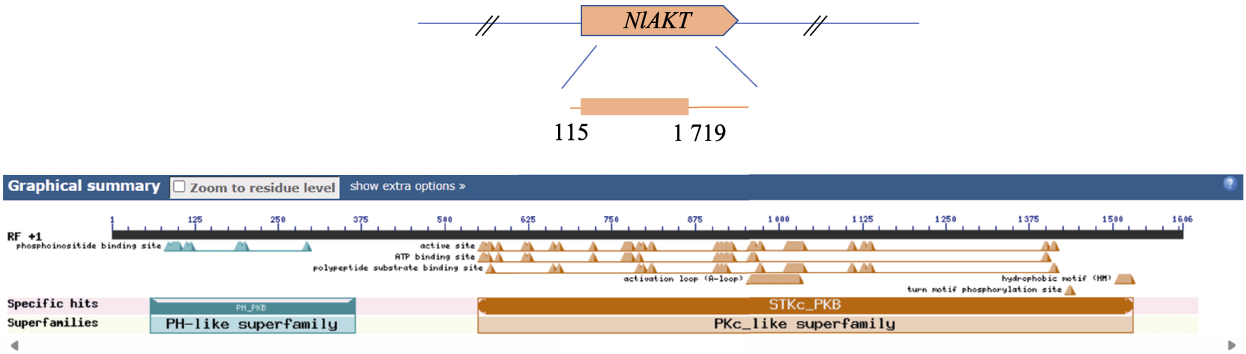


图 1　*NlAKT* 基因保守结构域比对分析

Fig. 1　Comparative analysis of the conserved domains of *NlAKT*

STKc_PKB：丝氨酸 / 苏氨酸激酶（蛋白激酶 B）的催化结构域，*E*-value：0；
PH_PKB：蛋白激酶 B 型普列克底物蛋白同源（PH）结构域，*E*-value：8.19×10^{-62}。
STKc_PKB: Catalytic domain of the serine/threonine kinase, protein kinase B, *E*-value: 0;
PH_PKB: Protein kinase B-like pleckstrin homology (PH) domain, *E*-value: 8.19×10^{-62}.

2.2　褐飞虱 *NlAKT* 基因的表达模式

采用 RT-qPCR 探索了 *NlAKT* 的时空表达模式。组织表达模式的结果显示，*NlAKT* 在褐飞虱不同组织中都有不同程度的表达，其中在卵巢的表达量最高（图 2），说明 *NlAKT* 可能参与褐飞虱卵巢发育的调控。从龄期表达模式的结果中发

现，*NlAKT* 在若虫阶段的表达较低，在成虫第 8 天的表达最高，随后开始降低，与褐飞虱卵巢发育过程相符（图 3）。

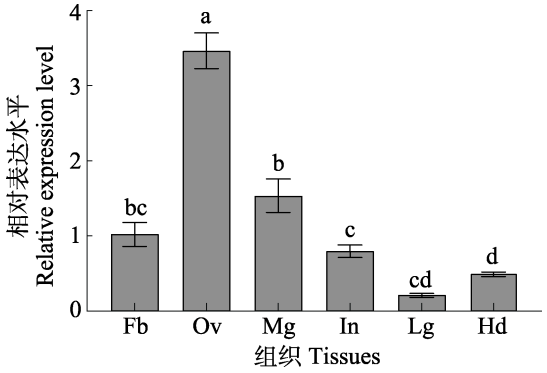


图 2　褐飞虱 *NlAKT* 在不同组织的表达量

Fig. 2　Expression of *NlAKT* in different tissues of *Nilaparvata lugens*

Fb：脂肪体；Hd：头部；In：表皮；Lg：足；Mg：中肠；Ov：卵巢。图中数据为平均值±标准误（$n = 3$），柱上标有不同字母表示差异显著（$P < 0.05$，Duncan 氏新复极差法检验）。图 3 同。

Fb: Fat body; Hd: Head; In: Integument; Lg: Leg; Mg: Midgut; Ov: Ovary. Data in the figure are mean ± SE ($n = 3$). Different letters above bars indicate significant difference ($P < 0.05$, Duncan's new multiple range test). The same for Fig. 3.

2.3　ds*NlAKT* 干涉效率的检测

通过检测 RNAi 处理后褐飞虱体内 *NlAKT* 基因的表达水平，以确定该基因的 RNAi 效率。qPCR 结果显示，在注射 ds*NlAKT* 48 h 后，ds*NlAKT* 的干涉效率最好，干涉效率达到 88%（$P < 0.05$）（图 4），表明注射 ds*NlAKT* 可以显著抑制褐飞虱体内 *NlAKT* 的表达，因此可以根据后续生测实验需要选择合适的时间点。

2.4　沉默 *NlAKT* 对褐飞虱蜜露量和获得性体重的影响

蜜露量和获得性体重可以反映褐飞虱适合度。注射 ds*NlAKT* 后，其蜜露量显著降低，分别为空白对照和 ds*GFP* 组的 51.6%和 50.4%（$P<0.05$）（图 5：A），获得性体重也显著降低，分别为空白对照和 ds*GFP* 组的 146.0%和 150.0%（$P<0.05$）（图 5：B），这表明沉默 *NlAKT* 降低了褐飞虱在抗性水稻上的适应性。

2.5　沉默 *NlAKT* 对褐飞虱取食行为的影响

为了确定 *NlAKT* 对褐飞虱取食行为的影响，沉默 *NlAKT* 后，本研究统计不同实验组水稻茎秆上的取食孔数量。结果表明，与空白对照和 ds*GFP* 组相比，ds*NlAKT* 上的取食孔的分布更密集（图 6：A），取食孔数量显著增加，分别为空白对照和 ds*GFP* 组的 56.4%和 57.0%（$P<0.05$）（图 6：B），这一结果表明 *NlAKT* 基因的表达受到干扰后，褐飞虱出现了明显的取食障碍，说明 *NlAKT* 参与调控褐飞虱的取食行为。

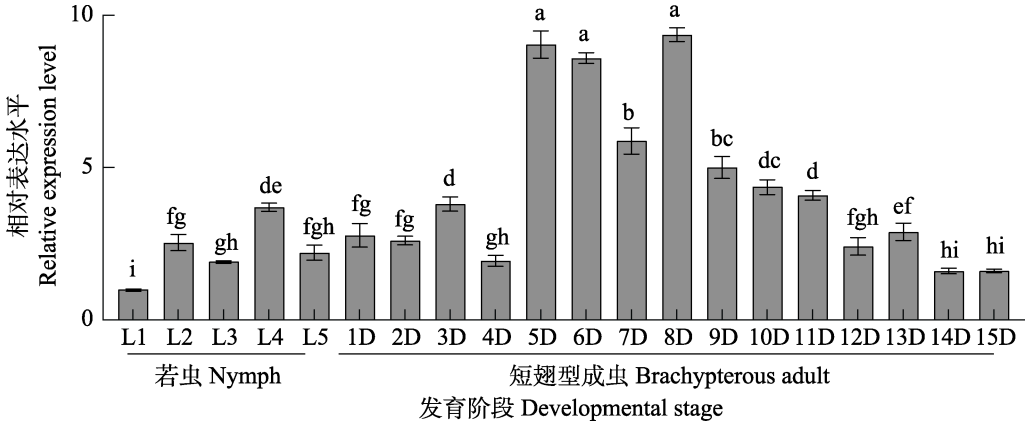


图 3　褐飞虱 *NlAKT* 在不同发育阶段的表达量

Fig. 3　Expression of *NlAKT* in *Nilaparvata lugens* at different developmental stages

L1-L5：褐飞虱 1-5 龄若虫；1D-15D：羽化后 1-15 d 的短翅型雌性褐飞虱。

L1-L5: 1st to 5th instar nymphs of the *N. lugens*; 1D-15D: Brachypterous female *N. lugens* at 1 to 15 days post-eclosion.

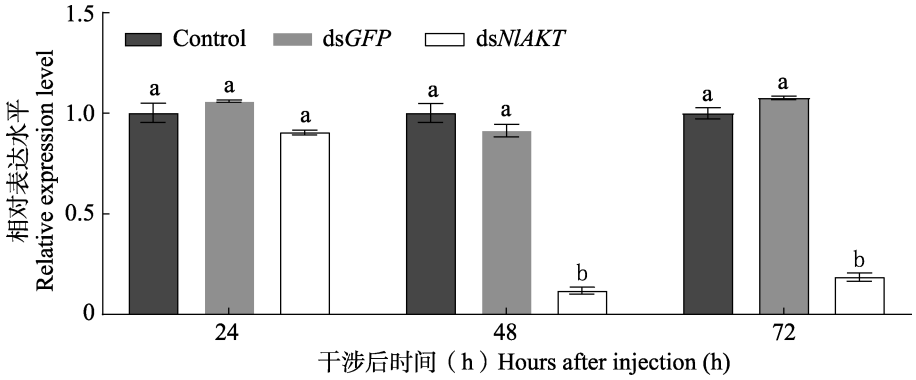


图 4　*NlAKT* 的干涉效率

Fig. 4　RNAi efficiency for *NlAKT*

Control：无注射处理，作为实验的基础空白对照；ds*GFP*：经 ds*GFP*（绿色荧光蛋白双链 RNA）注射处理，作为排除非特异性效应的阴性对照。数据为平均值±标准误（n = 3），柱上标有不同的小写字母表示实验组之间存在显著差异（P < 0.05, One-way ANOVA)。下图同。

Control: No injection treatment, serving as the baseline blank control for the experiment; ds*GFP*: Treated with injection of ds*GFP* (double-stranded green fluorescent protein RNA), serving as the negative control to account for non-specific effects. Data in the figure are mean±SE (n = 3), different lowercase letters above bars indicate significant difference between the experimental groups (P < 0.05, One-way ANOVA). The same below.

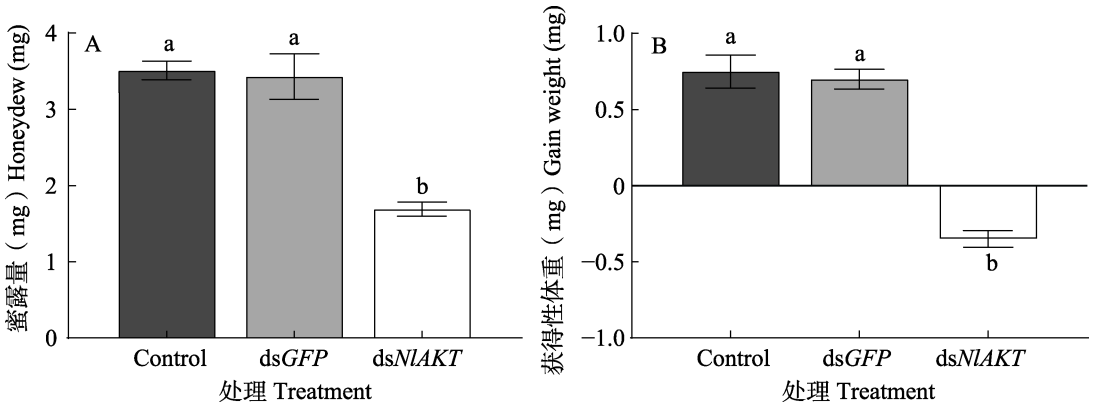


图 5　沉默 *NlAKT* 对褐飞虱蜜露量（A）和获得性体重（B）的影响

Fig. 5　Effects of *NlAKT* silencing on honeydew (A) and gain weight (B) of brown planthopper

数据为平均值±标准误（n = 10）。Data in the figure are mean±SE (n = 10).

2.6　沉默 *NlAKT* 对褐飞虱相关繁殖基因的 RT-qPCR 检测

为了研究沉默 *NlAKT* 基因后对褐飞虱相关繁殖基因 *NlVg*、*NlVgR* 的影响，我们利用 RT-qPCR 检测了注射 ds*NlAKT* 48h 后，*NlVg*、*NlVgR* 基因的相对表达水平。结果表明，与空白对照组相比，ds*NlAKT* 中 *NlVg*、*NlVgR* 的相对表达水平分别显著下降 41.4%和 59.3%（P<0.05）（图 7：A，B）。

2.7　沉默 *NlAKT* 对褐飞虱卵巢的影响

收集空白对照、ds*GFP* 和 ds*NlAKT* 组注射 72 h 后的褐飞虱进行卵巢解剖，结果显示，两个对照组的褐飞虱卵巢发育正常，卵粒和卵黄囊均饱满，其整个腹腔被成熟卵充塞，ds*NlAKT* 组的卵巢均发育迟缓（图 8：A，D），卵粒数与空白对照组相比减少了 61.8%（P<0.05）（图 8：C）。此外，用尼罗红染色法检测注射 ds*NlAKT* 的雌性成虫卵巢中脂滴的形态变化和分布。结果表明，

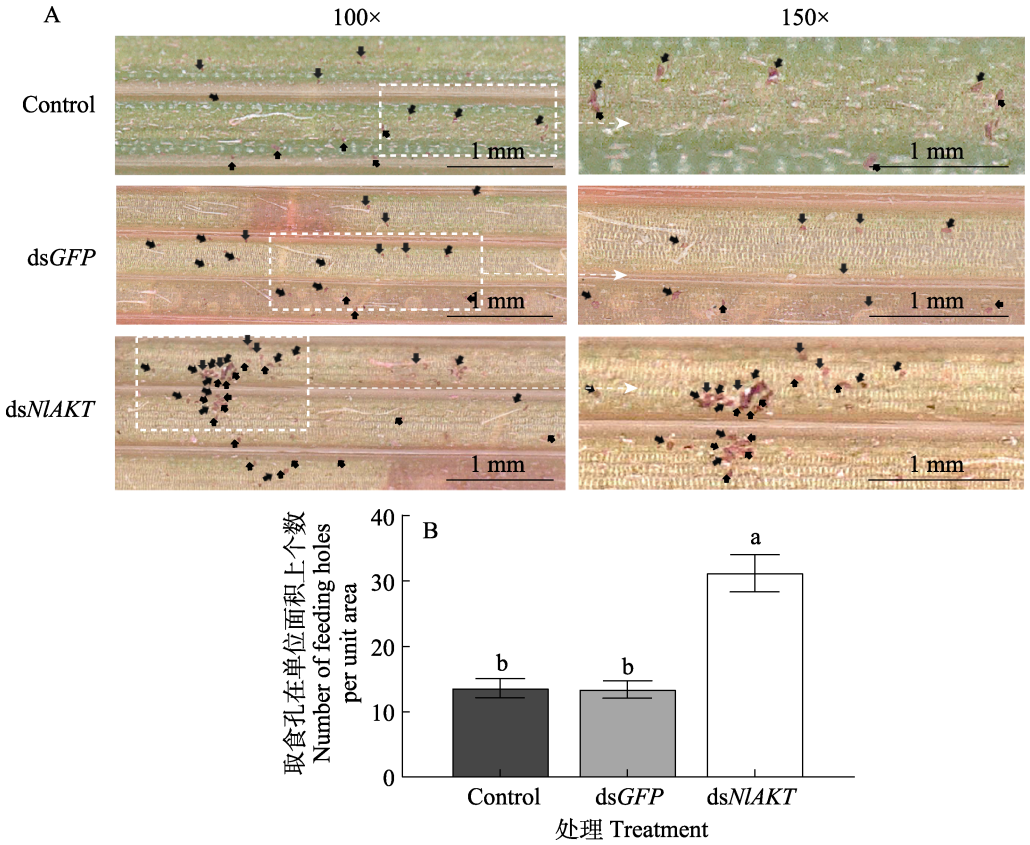


图 6　注射 ds*NlAKT* 对褐飞虱取食行为的影响

Fig. 6　Effects of ds*NlAKT* injection on feeding of *Nilaparvata lugens*

A. 褐飞虱取食孔在水稻茎秆上的图像，在 IR36 水稻样品上使用 100 倍和 150 倍的显微镜放大倍数；B. 褐飞虱取食孔数量。数据为平均值±标准误（n = 10）。

A. The image of the salivary flanges under microscope, microscopic magnifications of 100 times and 150 times were used on IR36 rice samples. B. Salivary flange of BPHs fed on rice. Data in the figure are mean±SE (n = 10).

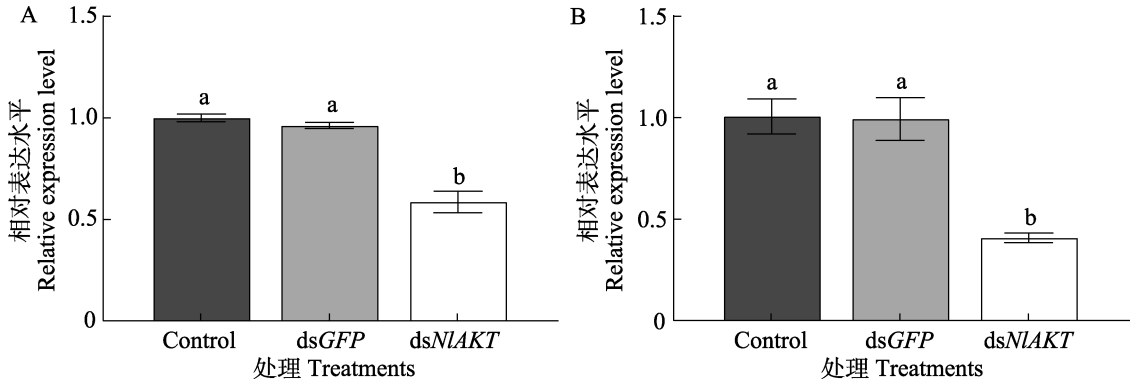


图 7　*NlAKT* 被 RNAi 后的 *NlVg*（A）和 *NlVgR*（B）表达水平

Fig. 7　Expression level of *NlVg* (A) and *NlVgR* (B) after RNAi of *NlAKT*

数据为平均值±标准误（n = 3）。Data in the figure are mean±SE (n = 3).

注射 ds*NlAKT* 后，卵巢中脂滴的大小异常且分布不均，而注射 ds*GFP* 和空白对照组的卵巢内含有大量小而圆、分布均匀的脂滴（图 8：B），这些结果表明 *NlAKT* 基因影响褐飞虱卵巢的发育。

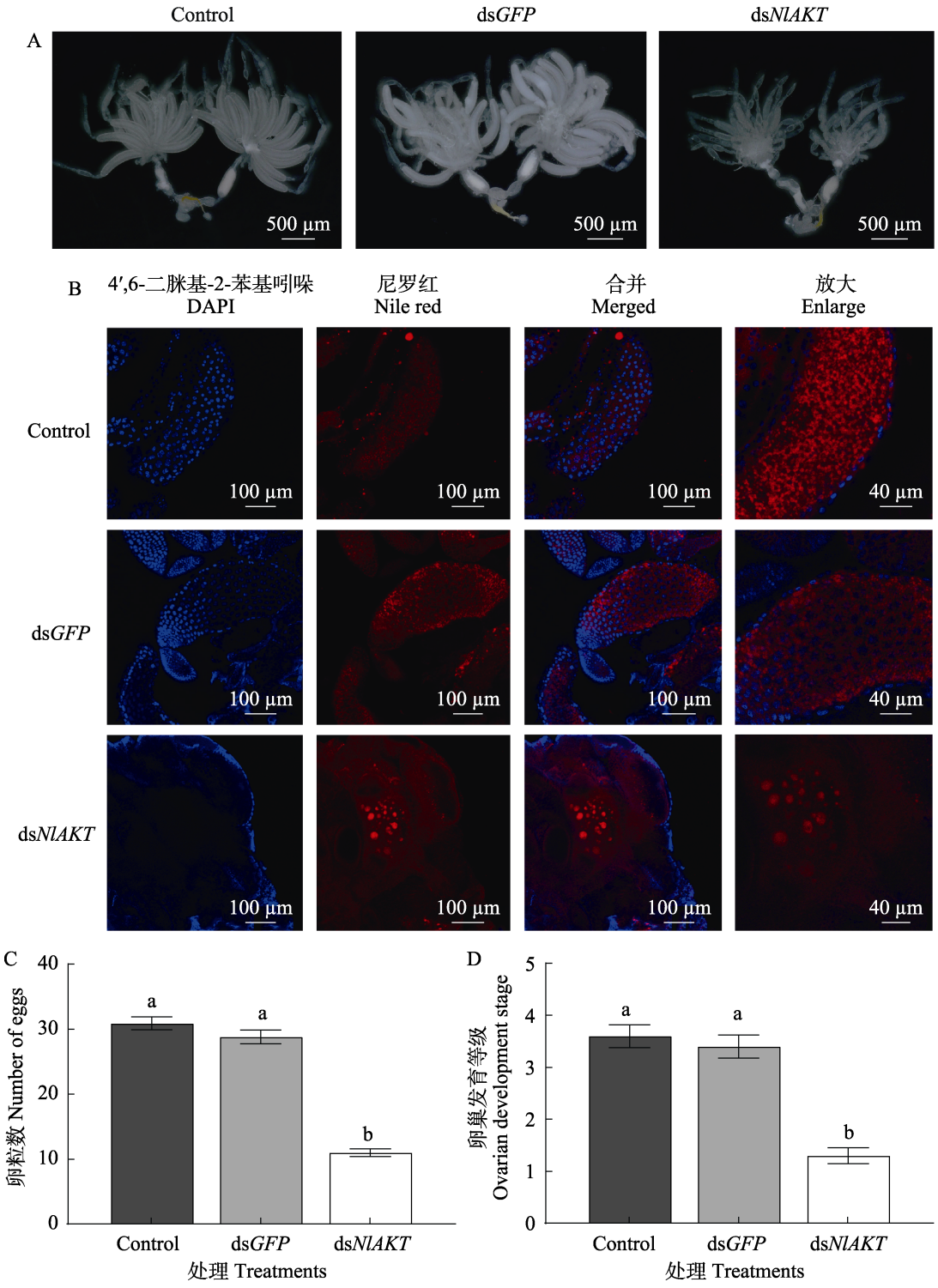


图 8　沉默 *NlAKT* 对褐飞虱卵巢的影响

Fig. 8　Effect of *NlAKT* silencing on *Nilaparvata lugens* ovaries

A. 褐飞虱的卵巢解剖图，放大倍数为 50 倍；B. 干涉 *NlAKT* 后卵粒内脂滴的观察，放大倍数为 20 倍和 40 倍；C. 卵粒数；D. 卵巢发育等级。数据为平均值 ± 标准误（n = 10）。

A. Anatomical map of ovarian in *N. lugens*, the magnification is 50×; B. Observation of lipid droplets in eggs after intervention with *NlAKT*, the magnification is 20× and 40×; C. Number of eggs; D. Ovarian development stage. Data in the figure are mean±SE (n = 10).

3 结论与讨论

褐飞虱对亚洲的水稻作物构成严重威胁（Bao *et al*., 2014），其强大的繁殖力可在适宜环境下引发剧烈的种群暴发（Shen *et al*., 2019）。由于昆虫的卵子发生与产卵过程直接影响后代数量与适合度（Minkenberg *et al*., 1992），调控生殖相关基因的表达成为影响其繁殖力的关键因素。参与生殖过程调节的基因在昆虫繁殖力中起着关键作用。在褐飞虱中，卵黄原蛋白及其受体对于发育中卵母细胞的营养供给是不可或缺的，并且褐飞虱卵黄原蛋白已经被用作潜在繁殖力的预测因子（Tufail *et al*., 2010; Dong *et al*., 2011; Zhai *et al*., 2013; Lu *et al*., 2015; Qiu *et al*., 2016）。在本研究中，注射 ds*NlAKT* 后，褐飞虱的卵巢发育迟缓，卵粒数下降，卵巢中脂滴的大小和分布异常（图 8），表明 *NlAKT* 基因也会影响褐飞虱卵巢发育。

本研究通过 PCR 技术获得了 *NlAKT* 的 ORF 区。表达谱分析显示，*NlAKT* 在褐飞虱卵巢中高表达（图 2）。类似地，已有研究表明埃及伊蚊 *Aedes aegypti* 中 *AaAKT* 在雌性成虫卵巢中具有特异性表达特征（Riehle and Brown，2003）；Xu 等（2021）发现烟草甲 *Lasioderma serricorne* 的 *LsAkt* 基因也在雌虫卵巢中高表达。这些结果提示 *NlAKT* 可能调控褐飞虱卵巢的发育过程。从发育阶段表达模式来看，*NlAKT* 在若虫期表达水平较低，而在成虫发育第 8 天达到表达高峰（图 3）。这一现象与黑肩绿盲蝽 *Cyrtorhinus lividipennis* 中 *ClAkt* 的表达特征相似，后者在成虫期表达量较高，并在羽化后第 5 天出现表达峰值（刘建琦，2021），这与褐飞虱卵巢的发育趋势表型相适应（芦芳等，2011）。

通过 RNAi 技术下调 *NlAKT* 基因的表达后，与空白对照和 ds*GFP* 组相比，褐飞虱分泌蜜露量分别下降了 51.6%和 50.4%（图 5：A）、获得性体重分别显著下降了 146.0%和 150.0%（图 5：B），取食孔数量分别显著增多了 56.4%和 57.0%（图 6：B），这表明表明褐飞虱 *NlAKT* 基因抑制了褐飞虱在水稻上的取食，降低了褐飞虱的适应性。此外，褐飞虱体内 *NlVg* 和 *NlVgR* 基因的相对表达水平与空白对照相比分别下降了 41.4%和 59.3%（图 7：A-B），且卵巢发育严重受阻，卵粒数下降，卵巢中脂滴的大小和分布异常（图 8：A-D）。有研究表明，沉默黑肩绿盲蝽 *ClAKT* 的表达会导致 *ClVg* 的表达水平下降，进而影响其卵巢的正常发育（Hu *et al*., 2024）；在烟草甲虫中，沉默 *LsAkt* 基因不仅抑制了雌虫卵巢的发育，还明显降低了其繁殖能力（Xu *et al*., 2021）；在九香虫 *Coridius chinensis* 中，*CcAkt* 敲除导致 *CcVg* 和 *CcVgR* 的表达降低，阻碍了卵巢的发育，减少卵的数量和孵化率（Feng *et al*., 2024）；褐飞虱 *NlRpn* 和 *NlNCS2* 基因沉默导致卵巢发育受阻以及卵巢中脂滴的增大和排列紊乱（Wang *et al*., 2021; Zhang *et al*., 2022）。这进一步说明 *NlAKT* 与卵巢发育具有紧密的联系。

综上所述，本研究从褐飞虱获得了丝氨酸/苏氨酸激酶 AKT 基因（*NlAKT*）。通过 RNA 干扰降低 *NlAKT* 的表达可抑制褐飞虱卵巢发育。这证明了 *NlAKT* 调控褐飞虱取食和繁殖，影响其生长发育速率和繁殖潜能，这些结果为褐飞虱适合度调控和生物防治策略提供了新思路。

参考文献 (References)

Badisco L, Van Wielendaele P, Vanden Broeck J, 2013. Eat to reproduce: A key role for the insulin signaling pathway in adult insects. *Frontiers in Physiology*, 4: 202.

Bao YY, Qin X, Yu B, Chen LB, Wang ZC, Zhang CX, 2014. Genomic insights into the serine protease gene family and expression profile analysis in the planthopper, *Nilaparvata lugens*. *BMC Genomics*, 15(1): 507.

Bao YY, Zhang CX, 2019. Recent advances in molecular biology research of a rice pest, the brown planthopper. *Journal of Integrative Agriculture*, 18: 716–728.

Dong SZ, Ma Y, Hou Y, Yu XP, Ye GY, 2011. Development of an ELISA for evaluating the reproductive status of female brown planthopper, *Nilaparvata lugens*, by measuring vitellogenin and vitellin levels. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 139: 103–110.

Feng J, Du J, Li S, Chen X, 2024. Akt regulates the fertility of *Coridius chinensis* by insulin signaling pathway. *Scientific Reports*, 14(1): 28708.

Han B, Zhang T, Feng Y, Liu X, Zhang L, Chen H, Zeng F, Wang M, Liu C, Li Y, Cui J, Li Z, Mao J, 2020. Two insulin receptors

coordinate oogenesis and oviposition via two pathways in the green lacewing, *Chrysopa pallens*. *Journal of Insect Physiology*, 123: 104049.

Hu K, Jin R, Liu J, Zhu J, Dai W, Wang Y, Yao L, Liu, F, 2024. Functional characterization of the InR/PI3K/AKT signaling pathway in female reproduction of the predatory bug *Cyrtorhinus lividipennis* (Hemiptera: Miridae). *Journal of Economic Entomology*, 117(4): 1655–1664.

Liu JQ, 2021. The functional study of key genes for insulin signaling pathway in imidacloprid induced stimulation of reproduction in *Cyrtorhinus lividipennis* Reuter (Hemiptera: Miridae). Master dissertation. Jiangsu: Yangzhou University. [刘建琦, 2021. 胰岛素信号途径关键基因在吡虫啉刺激黑肩绿盲蝽生殖中的功能研究. 硕士学位论文. 江苏: 扬州大学.]

Lu F, Qi GJ, Qin RR, Hu G, Wang Z, Zhang XX, Cheng XN, 2011. The processes of morphological change and grading criteria for ovarian development in the brown planthopper. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 48(5): 1394–1400. [芦芳, 齐国君, 秦冉冉, 胡高, 王政, 张孝羲, 程遐年, 翟保平, 2011.褐飞虱卵巢发育的形态变化过程及分级标准. 应用昆虫学报, 48(5): 1394–1400.]

Lu K, Shu Y, Zhou J, Zhang X, Zhang X, Chen M, Yao Q, Zhou Q, Zhang W, 2015. Molecular characterization and RNA interference analysis of vitellogenin receptor from *Nilaparvata lugens* (Stål). *Journal of Insect Physiology*, 73: 20–29.

Lu K, Chen X, Li Y, Li W, Zhou Q, 2018. Lipophorin receptor regulates *Nilaparvata lugens,* fecundity by promoting lipid accumulation and vitellogenin biosynthesis. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, (219/220): 28–37.

Lu T, Lu Y, Wang L, Liu Z, Miao S, Tai Y, Yang B, 2023. The serine/threonine kinase Akt gene affects fecundity by reducing Juvenile hormone synthesis in *Liposcelis entomophila* (Enderlein). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 196: 105583.

Luo J, 2013. The binding and dissociation mechanism exploration of ligands to vitellogenin receptor in silkworm, *Bombyx mori*. Master dissertation. Chongqing: Southwest University. [罗娟, 2013. 家蚕卵黄原蛋白受体(BmVgR)与配体结合及解离机制的初探. 硕士学位论文. 重庆: 西南大学.]

Minkenberg OPJM, Tatar M, Rosenheim JA, 1992. Egg load as a major source of variability in insect foraging and oviposition behavior. *Oikos*, 65(1): 134–142.

Pang R, Qiu J, Li T, Yang P, Yue L, Pan Y, Zhang W, 2017. The regulation of lipid metabolism by a hypothetical P-loop NTPase and its impact on fecundity of the brown planthopper. *Biochimica et Biophysica Acta-General Subjects*, 1861(7): 1750–1758.

Parthasarathy R, Sun Z, Bai H, Palli SR, 2010. Juvenile hormone regulation of vitellogenin synthesis in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 40(5): 405–414.

Qiu J, He Y, Zhang J, Kang K, Li T, Zhang W, 2016. Discovery and functional identification of fecundity-related genes in the brown planthopper by large-scale RNA interference. *Insect Molecular Biology*, 25(6): 724–733.

Qiu X, Huang W, Yue W, Li D, Zhi J, 2024. Response of the serine/threonine kinase AKT and phosphoinositide-dependent kinase PDK in *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) to three kinds of foods and their regulation of reproductive function. *Insect Molecular Biology*, 33(4): 372–386.

Riddiford LM, 1994. Cellular and molecular actions of juvenile hormone I. Generalconsiderations and premetamorphic actions. *Advances in Insect Physiology*, 24: 213–274.

Riehle MA, Brown MR, 2003. Molecular analysis of the serine/threonine kinase Akt and its expression in the mosquito *Aedes aegypti*. *Insect Molecular Biology*, 12(3): 225–232.

Shen Y, Chen YZ, Lou YH, Zhang CX, 2019. Vitellogenin and vitellogenin-like genes in the brown planthopper. *Frontiers in Physiology*, 10: 1181.

Sōgawa K, 2003. The rice brown planthopper: Feeding physiology and host plant interactions. *Annual Review of Entomology*, 27 (1): 49–73.

Tufail M, Naeemullah M, Elmogy M, Sharma PN, Takeda M, Nakamura C, 2010. Molecular cloning, transcriptional regulation, and differential expression profiling of vitellogenin in two wing-morphs of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål) (Hemiptera: Delphacidae). *Insect Molecular Biology*, 19(6): 787–798.

Wang W, Yang RR, Peng LY, Zhang L, Yao YL, Bao YY, 2021. Proteolytic activity of the proteasome is required for female insect reproduction. *Open Biology*, 11(2): 200251.

Xu KK, Yan Y, Yan SY, Xia PL, Yang WJ, Li C, Yang H, 2021. Disruption of the serine/threonine kinase *Akt* gene affects ovarian development and fecundity in the cigarette beetle, *Lasioderma serricorne. Frontiers in Physiology,* 12: 765819.

Yu DT, 2007. Biological characteristics and identification of the brown planthopper. *Agricultural Technology Service*, 24(2): 45–46. [余德涛, 2007. 褐飞虱的生物学特性及鉴别. 农技服务, 24(2): 45–46.]

Zhai Y, Zhang J, Sun Z, Dong X, He Y, Kang K, Liu Z, Zhang W, 2013. Proteomic and transcriptomic analyses of fecundity in the brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stål). *Journal of Proteome Research*, 12(11): 5199–5212.

Zhang L, Cheng X, Tao S, Peng LY, Zhu Z, Bao YY, 2022. Neuronal calcium sensor 2 is key to moulting and oocyte development in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Insect Molecular Biology*, 31(6): 722–733.

Zhuo JC, Xue J, Lu JB, Huang HJ, Xu HJ, Zhang CX, 2017. Effect of RNAi-mediated knockdown of *NlTOR* gene on fertility of male *Nilaparvata lugens* (Stål). *Journal of Insect Physiology*, 98: 149–159.