草地贪夜蛾基因组微卫星的分布规律*

张雪莲[1**] 王红梅[1] 王 磊[1] 唐瑞祥[1] 岳碧松[1,2] 孟 杨[1***]

（1. 四川大学生命科学学院，生物资源与生态环境教育部重点实验室，成都 610064；
2. 四川大学生命科学学院，四川省濒危野生动物保护生物学重点实验室，成都 610064）

摘 要 **【目的】** 本研究旨在全基因组水平上分析草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 完美微卫星的分布规律并对微卫星位于外显子的基因进行 GO 功能分析，为开发微卫星标记并进一步开展功能研究提供数据基础。**【方法】** 利用软件 Krait v0.10.2 鉴定草地贪夜蛾基因组的完美微卫星并分析其多样性；利用 Python 脚本对完美微卫星进行定位，分析其在全基因组不同位置的分布规律；进一步利用 BLAST 软件、Swiss-Prot 蛋白质数据库和 R 包的 clusterProfiler v3.14.3 工具包对微卫星位于外显子的基因进行 GO 功能分析。**【结果】** 共搜索到完美微卫星 64 025 个，其中以单碱基微卫星为主，有 28 782 个，其余依次是四碱基（19 278 个）、三碱基（7 685 个）、二碱基（5 734 个）、五碱基（1 639 个）和六碱基微卫星（907 个），进一步分析发现 6 类完美微卫星分别以 A、AC、ATC、AAAT、AAAAT 和 AAAGTC 重复拷贝类别为主。随着重复拷贝类别碱基数目的增加，完美微卫星偏好的重复拷贝次数范围逐渐变小。除 23、28 和 30 号染色体，6 类完美微卫星在其余染色体上的分布情况与其总体分布情况相一致，进一步定位于基因间区的完美微卫星有 47 714 个，定位于基因上的完美微卫星有 16 311 个，其中内含子区有 16 103 个，外显子区有 208 个。完美微卫星位于外显子分布于 196 个基因，GO 注释分析发现，有 132 个基因得到注释，所得 GO 条目为 357 个，其中 122 个 GO 条目归于细胞组分；117 个 GO 条目与分子功能有关；118 个 GO 条目参与到生物学过程中。GO 富集条目则主要与磷酸酶和激酶活性等分子功能以及 RNA 聚合酶Ⅱ介导的转录等生物学过程有关。**【结论】** 本研究初步了解了草地贪夜蛾基因组完美微卫星的分布情况，其基因组完美微卫星的总体相对丰度较低，且大量分布于基因组的非编码区，其中除了单碱基微卫星外，四碱基和三碱基微卫星的相对丰度相对较高，能为开发草地贪夜蛾多态性微卫星标记提供丰富的候选位点。

关键词 草地贪夜蛾；微卫星；基因组；染色体；功能注释

Distribution of microsatellites in the genome of *Spodoptera frugiperda*

ZHANG Xue-Lian[1**] WANG Hong-Mei[1] WANG Lei[1] TANG Rui-Xiang[1]
YUE Bi-Song[1,2] MENG Yang[1***]

(1. Key Laboratory of Bio-resources and Eco-environment (Ministry of Education), College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610064, China; 2. Sichuan Key Laboratory of Conservation Biology on Endangered Wildlife, College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610064, China)

Abstract **[Objectives]** To analyze the distribution of perfect SSRs (P-SSRs) in the entire genome of *Spodoptera frugiperda* and the GO function of genes containing P-SSRs in the exon regions, in order to provide a data base for the development of microsatellite markers and further functional studies. **[Methods]** Krait v0.10.2 was used to identify P-SSRs and analyze their diversity, after which a python script was used to locate P-SSRs so that their distribution in different regions of the genome could be analyzed. Finally, BLAST software, the Swiss-Prot protein database and the R package's clusterProfiler v3.14.3 toolkit were combined to analyze the functions of genes containing P-SSRs in exon regions. **[Results]** A total of 64 025

*资助项目 Supported projects：四川省科技计划项目“草地贪夜蛾综合防控技术研究与示范”（2019YFN0180）

**第一作者 First author，E-mail：290580109@qq.com

***通讯作者 Corresponding author，E-mail：mengyang@scu.edu.cn

收稿日期 Received：2020-02-16；接受日期 Accepted：2020-04-20

P-SSRs were identified, of these mononucleotide SSRs (28 782) were the most abundant, followed by tetranucleotide SSRs (19 278), trinucleotide SSRs (7 685), dinucleotide SSRs (5 734), pentanucleotide SSRs (1 639) and hexanucleotide SSRs (907). The main repeated copy categories in the above 6 types of P-SSRs were A, AC, ATC, AAAT, AAAAT and AAAGTC, respectively. The number of repetitions of P-SSRs gradually decreased as the number of repeated bases increased. In addition to chromosomes 23, 28 and 30, the distribution of the 6 types of P-SSRs on other chromosomes was consistent with their overall distribution. A further 47 714 P-SSRs were located in the intergenic regions and 16 311 in the genes, including 16 103 in intron regions and 208 in exon regions. P-SSRs in the exon regions were distributed on 196 genes, 132 genes of which were annotated by GO annotation analysis. There were 357 GO terms, of which 122 were attributed to the cellular component, 117 to molecular function and 118 to biological processes. GO enrichment terms were mainly related to molecular functions such as phosphatase and kinase activity, and to biological processes such as RNA polymerase II mediated transcription. **[Conclusion]** A preliminarily analysis of the distribution of P-SSRs in the *S. frugiperda* genome was successfully completed. Although the total relative abundance of P-SSRs is relatively low, P-SSRs are widely distributed in the intergenic regions of the genome. In addition to mononucleotide SSRs, the relative abundance of tetranucleotide SSRs and trinucleotide SSRs is relatively high, which could provide an abundance of candidate loci for use as microsatellite molecular markers.

Key words *Spodoptera frugiperda*; microsatellite; genome; chromosome; functional annotation

草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda*，隶属于鳞翅目 Lepidoptera 夜蛾科 Noctuidae 灰翅夜蛾属 *Spodoptera*，原产于美洲热带和亚热带地区（Sparks，1979）。该虫为多食性害虫，其寄主广泛（Goergen *et al.*，2016；Montezano *et al.*，2018）、繁殖能力强（郭井菲等，2019a；卢辉等，2019）且能远距离迁飞（Westbrook *et al.*，2016；Chapman *et al.*，2017），已成为世界性的重大农业害虫（葛世帅等，2019）。2016-2018 年，该虫入侵非洲和亚洲并迅速蔓延（郭井菲等，2018；Prasanna *et al.*，2018；CABI，2019），对非洲和亚洲的粮食安全构成严重威胁。据报道，若是缺乏防控措施，仅在非洲 12 个玉米种植国家草地贪夜蛾每年能使玉米减产 830-2 060 万吨，可造成 24.8-61.9 亿美元的经济损失（Day *et al.*，2017）。2019 年 1 月草地贪夜蛾经缅甸侵入我国云南地区（郭井菲等，2019b；唐璞等，2019），其后迅速向广西、广东、贵州和湖南等临近省、自治区扩散，截至 2019 年 10 月，全国已有 26 个省（市、区）1 538 个县（区、市）见虫，发生面积达 108 万 hm^2（杨现明等，2020），估计 2020 年草地贪夜蛾可能侵入包括东北在内的玉米产区，除对玉米造成危害外，还会对西南、长江中下游和黄淮地区小麦，西南、华南地区甘蔗、高粱等多种农作物生产安全造成重大威胁，形势极为严峻（吴孔明，2020）。

微卫星（Microsatellite），又称为简单序列重复（Simple sequence repeats，SSRs），广泛存在于真核生物基因组中，包括基因组的编码区和非编码区（Tóth *et al.*，2000），具有多态性、共显性遗传、保守性、分布广和易于检测等特点（石仕福，2009），在昆虫领域常应用于群体遗传结构的分析（Duan *et al.*，2017）、昆虫行为和习性的研究（Hacker *et al.*，2005；Trontti *et al.*，2005）、遗传图谱的构建（朱玉等，2012）、特定基因的定位（Gorman *et al.*，1997；李明辉，2006）和物种进化与系统发生（Sunnucks *et al.*，1996；Wilson *et al.*，1999）等方面。

Arias 等（2011）曾通过微卫星富集文库的方法对草地贪夜蛾微卫星标记进行筛选，但草地贪夜蛾全基因组微卫星的分布规律尚待研究。近年来，随着生物信息学和基因组学的发展，利用生物信息学方法对昆虫全基因组范围内的微卫星分布规律进行分析已成为可能（Thiel *et al.*，2003；Wang *et al.*，2016）。本研究在全基因组水平上对草地贪夜蛾完美微卫星的分布规律进行统计分析，为开发多态性微卫星位点作为分子标记进一步开展草地贪夜蛾种群遗传结构、功能基因的遗传定位以及其高度杂食性和农药抗性调控机制等研究奠定基础。

1　材料与方法

1.1　基因组数据和注释文件

基因组数据：草地贪夜蛾（玉米型，雄性）染色体水平的基因组序列，约 542.42 Mb，下载地址为 ftp://ftp.cngb.org/pub/CNSA/CNP0000513/CNS0099235/CNA0003276，文件名：SfynMst-LFRHiC.fa.gz。注释文件：本实验室所注释的.gff 文件，约 8.8 Mb。

1.2　数据分析

根据微卫星的自身结构，将微卫星分为 3 种类型，分别为完美微卫星（Perfect SSRs，P-SSRs）、复合微卫星（Compound SSRs，CD-SSRs）和不完美微卫星（Imperfect SSRs，IP-SSRs）（Weber，1990）。由于微卫星序列的复杂性和多样性，对复合微卫星和不完美微卫星插入序列的长度和数量没有明确的统一规定（柳莹等，2014），在基因组微卫星的鉴定过程中会产生较大的争议，因此本研究着重于研究完美微卫星在草地贪夜蛾基因组的分布规律。

1.2.1　完美微卫星的多样性分析

1.2.1.1　微卫星的鉴定及相关数据分析　利用软件 Krait v0.10.2（Du *et al.*，2018）处理基因组 FASTA 格式序列，对基因组中完美微卫星进行鉴定并导出结果。完美微卫星的检索标准（卢婷等，2017）为单碱基微卫星核心序列重复拷贝次数≥12，二碱基微卫星核心序列重复拷贝次数≥7，三碱基微卫星核心序列重复拷贝次数≥5，四碱基、五碱基和六碱基微卫星核心序列重复拷贝次数均≥4。将所有完美微卫星按照以上 6 种类型进行归类整理，分别统计 6 类微卫星的数量、总长度、平均长度、相对密度、相对丰度和比例，具体计算方式：平均长度（bp）=各类型微卫星总长度/各类型微卫星的数量；相对密度（bp/Mb）=各类型微卫星总长度/基因组序列的总有效长度；相对丰度（loci/Mb）=各类型微卫星的数量/基因组序列的总有效长度；比例（%）=（各类型微卫星的数量/微卫星总数）×100。需注意，本研究中基因组序列的总长度为 A+T+C+ G+N 的数量，而基因组序列的总有效长度为 A+T+C+G 的碱基数。

1.2.1.2　微卫星丰富的重复拷贝类别及其数量的分析　统计分析 6 类微卫星中数量丰富的重复拷贝类别及其占该类微卫星的比例，同时对所有重复拷贝类别的数量进行排序，统计分析基因组中数量在前 10 的微卫星重复拷贝类别。

1.2.1.3　微卫星核心序列重复拷贝次数与其数量的关系　分别统计 6 类微卫星的重复拷贝次数和在该拷贝次数下所对应的微卫星数量，利用 Origin 8.0 软件作微卫星核心序列重复拷贝次数和数量的关系图，对 6 类微卫星重复拷贝次数与数量的关系进行分析，同时统计二碱基微卫星重复拷贝次数≥12，三碱基、四碱基、五碱基、六碱基微卫星重复拷贝次数≥8 的微卫星数量。

1.2.2　完美微卫星的位置分布

1.2.2.1　微卫星在染色体上的分布　基于软件 Krait 的处理结果，分析完美微卫星在各染色体上的分布情况，包括各染色体上微卫星的类型、数量、比例和相对丰度等信息，同时利用 SPSS v21.0 的 Pearson 相关的单侧检验对染色体长度与微卫星数量进行相关性检验。

1.2.2.2　微卫星在基因组上的不同位置分布　利用软件 Krait 所提供的微卫星位置信息文件和本实验室的基因组注释文件（.gff 格式文件，其中 mRNA 区表示基因区（包括内含子 Intron 区和外显子 Exon 区，CDS 区则表示外显子区）），通过编写 Python 脚本，比对 2 个文件的位置信息，将所有微卫星进行位置定位并对位于基因间区、内含子区和外显子区的微卫星进行数量和类型的统计分析。

1.2.3　完美微卫星位于外显子区的基因 GO（Gene ontology）注释和富集分析

提取基因序列，使用 BLAST 软件与 Swiss-Prot 蛋白质数据库（Morgat *et al.*，2019）进行比对（E-value < 1×10^{-5}），通过比对得到的 UniProtKB ID（Swiss-Prot 蛋白质数据库序列的 ID）将 GO 号注释到对应的基因上，得到草地贪夜蛾基因组的 GO 注释信息。将微卫星位于外显子区的基因对应到草地贪夜蛾的基因上，提取所注释得到的 GO 条目并提交至

WEGO（http://wego.genomics.org.cn/)（Ye *et al.*，2018）进行 GO 条目的分类统计，同时利用 R 包的 clusterProfiler v3.14.3 工具包（Yu *et al.*, 2012）对微卫星位于外显子的基因进行 GO 功能富集分析（以 *P*.adjust < 0.05 作为筛选阈值）。

2 结果与分析

2.1 草地贪夜蛾全基因组完美微卫星的多样性分析

2.1.1 6 类完美微卫星的数量、比例、相对密度和相对丰度 利用软件 Krait 在总有效长度约为 505.71 Mb 的基因组序列中共鉴定到 64 025 个完美微卫星，其总长度为 1 120 507 bp，约占基因组序列总长度的 0.21%，总相对丰度和相对密度分别为 126.60 loci/Mb 和 2 215.74 bp/Mb。其中单碱基微卫星的数量最多（28 782），占完美微卫星总数的 44.95%，相对丰度为 56.91 loci/Mb，相对密度为 872.16 bp/Mb；其次是四碱基微卫星（19 278），占完美微卫星总数的 30.11%，相对丰度为 38.12 loci/Mb，相对密度为 723.11 bp/Mb；之后依次是三碱基微卫星（7 685，12.0%），二碱基微卫星（5 734，8.96%），五碱基微卫星（1 639，2.56%）和六碱基微卫星（907，1.42%）（表 1）。

2.1.2 完美微卫星丰富的重复拷贝类别及其数量 在完美微卫星中，不仅不同重复类型的微卫星数量差异很大，而且在同一类型微卫星中，各重复拷贝类别的数量和所占的比例也大不相同。

表 1 草地贪夜蛾基因组中完美微卫星分布概况

Table 1 Distribution of perfect SSRs in the genome of *Spodoptera frugiperda*

重复类型 Repeat types	数量 Counts	长度（bp） Length	占比（%） Proportion	平均长度（bp） Average length	相对密度（bp/Mb） Relative density	相对丰度（loci/Mb） Relative abundance
单碱基 Mononucleotide	28 782	441 054	44.95	15.32	872.16	56.91
二碱基 Dinucleotide	5 734	113 898	8.96	19.86	225.23	11.34
三碱基 Trinucleotide	7 685	131 136	12.0	17.06	259.31	15.20
四碱基 Tetranucleotide	19 278	365 680	30.11	18.97	723.11	38.12
五碱基 Pentanucleotide	1 639	39 075	2.56	23.84	77.27	3.24
六碱基 Hexanucleotide	907	29 664	1.42	32.71	58.66	1.79
总数 Total	64 025	1 120 507	100	17.51	2 215.74	126.60

单碱基微卫星以 A（25 755 个）重复拷贝类别为主，占单碱基微卫星总数的 89.48%，C 重复拷贝类别只有 3 027 个，仅占 10.52%。二碱基微卫星以 AC（3 504 个）重复拷贝类别为主，占二碱基微卫星总数的 61.11%。三碱基微卫星以 ATC（4 776 个）重复拷贝类别为主，占三碱基微卫星总数的 62.15%。四碱基微卫星以 AAAT（4 345 个）重复拷贝类别为主，占四碱基微卫星总数的 22.54%。五碱基微卫星以 AAAAT（315 个）重复拷贝类别为主，占五碱基微卫星总数的 19.22%。六碱基微卫星各重复拷贝类别对应的数量较少，其中以 AAAGTC（232 个）重复拷贝类别为主，占六碱基微卫星总数的 25.58%，6 类微卫星中部分重复拷贝类别及其数量见表 2，且全基因组中数量在前 10 的完美微卫星依次分别为 A、ATC、AAAT、AAAC、ATAC、AC、C、ACAG、AG 和 AAT 重复拷贝类别，共有 53 988 个，占完美微卫星总数的 84.32%。

2.1.3 完美微卫星核心序列重复拷贝次数与数量的关系 各类完美微卫星核心序列偏好的重复拷贝次数变化范围较大，单碱基和二碱基微卫星的重复拷贝次数变化范围远大于五碱基和六碱基微卫星。其中单碱基和二碱基微卫星的重复拷贝次数主要分布在 12-40 次和 7-30 次，分别

表 2　草地贪夜蛾完美微卫星部分拷贝类别

Table 2　Part of copy categories in the perfect SSRs of *Spodoptera frugiperda*

单碱基 Mononucleotide	二碱基 Dinucleotide	三碱基 Trinucleotide	四碱基 Tetranucleotide	五碱基 Pentanucleotide	六碱基 Hexanucleotide
A (25 755)	AC (3 504)	ATC (4 776)	AAAT (4 345)	AAAAT (315)	AAAGTC (232)
C (3 027)	AG (1 477)	AAT (1 278)	AAAC (4 014)	AACCT (294)	AAAGAG (163)
	AT (724)	CCG (555)	ATAC (3 803)	ATCAC (73)	ACTCTC (50)
	CG (29)	AAG (291)	ACAG (2 009)	AAATT (71)	AAAAAT (46)
		AAC (282)	AAAG (795)	AATAG (61)	AACCAG (43)
		AGC (205)	ACTG (697)	AAATC (55)	AAACTC (32)

括号中的数字代表各拷贝类别的数量。

The number in parenthesis represents the counts of copy categories.

占其同类型微卫星总数的 98.64%和 98.94%，而五碱基和六碱基微卫星则主要分布在 4-10 次和 4-11 次，分别占其同类型微卫星总数的 97.62%和 94.71%。介于两者之间的是三碱基和四碱基微卫星，其重复拷贝次数主要分布在 5-15 次和 4-20 次，分别占其同类型微卫星的 99.88%和 99.93%。由此可见，随着重复类别碱基数目的增加，微卫星偏好的重复拷贝次数范围逐渐变小。同时发现各类型微卫星的数量随着微卫星重复拷贝次数的增加而呈现减少的趋势，例如，当 A 重复拷贝的次数从 12 次增加至 644 次时，A 重复拷贝的数量从 9 374 个减少至 1 个，其他类型的微卫星均符合该趋势（图 1）。本研究还进一步统计了二碱基微卫星核心序列重复拷贝次数≥12 以及三碱基、四碱基、五碱基和六碱基微卫星核心序列重复拷贝次数≥8 的微卫星数量以及其占各类型微卫星的比例（表 3），为草地贪夜蛾多态性微卫星分子标记的开发提供基础数据。

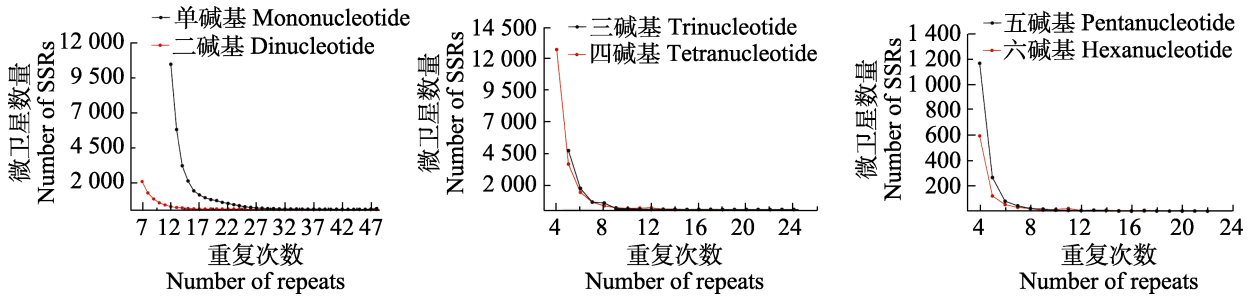

图 1　草地贪夜蛾完美微卫星的重复拷贝次数分布

Fig. 1　Distribution of repeated numbers in the perfect SSRs of *Spodoptera frugiperda*

表 3　5 类完美微卫星的数量

Table 3　Number of 5 types of perfect SSRs

重复类型 Repeat types	重复次数 Number of repeats	数量 Counts	比例（%） Proportion
二碱基 Dinucleotide	≥12	1 015	17.70
三碱基 Trinucleotide	≥8	683	8.89
四碱基 Tetranucleotide	≥8	931	4.83
五碱基 Pentanucleotide	≥8	87	5.31
六碱基 Hexanucleotide	≥8	113	12.46

2.2　草地贪夜蛾全基因组完美微卫星的位置分布

2.2.1　完美微卫星在染色体上的分布　通过软件 Krait 的统计分析，其中被定位到染色体上的完美微卫星有 51 455 个，占完美微卫星总数的 80.37%，未被定位到染色体的完美微卫星有 12 570 个，占 19.63%。除 23、28 和 30 号染色体，6 类微卫星在其余染色体上的分布情况较一致，均以单碱基微卫星为主，其后依次是四碱基、三碱基、二碱基、五碱基和六碱基微卫星，表 4

表 4 草地贪夜蛾 31 条染色体完美微卫星的分布情况

Table 4 Distribution of perfect SSRs in 31 chromosomes of *Spodoptera frugiperda*

染色体（长度） Chromosome (Mb)	6 类完美微卫星 Six types of perfect SSRs						总数 Total	比例（%） Proportion	相对丰度（loci/Mb） Relative abundance
	单碱基 Mono-	二碱基 Di-	三碱基 Tri-	四碱基 Tetra-	五碱基 Penta-	六碱基 Hexa-			
chr1 (27.91)	1 139	279	319	908	79	28	2 752	4.30	98.60
chr2 (21.39)	1 124	206	266	648	67	35	2 346	3.66	109.68
chr3 (20.49)	1 169	203	243	630	85	39	2 369	3.70	115.62
chr4 (19.58)	1 025	170	213	616	52	25	2 101	3.28	107.30
chr5 (18.85)	940	168	252	463	40	30	1 893	2.96	100.42
chr6 (17.48)	811	175	218	492	47	14	1 757	2.74	100.51
chr7 (17.13)	776	141	206	464	41	23	1 651	2.58	96.38
chr8 (16.31)	756	145	189	444	43	17	1 594	2.49	97.73
chr9 (16.32)	965	169	219	642	47	25	2 067	3.23	126.65
chr10 (16.02)	752	157	201	459	36	15	1 620	2.53	101.12
chr11 (15.41)	732	155	173	389	40	18	1 507	2.35	97.79
chr12 (14.94)	665	151	211	467	31	26	1 551	2.42	103.82
chr13 (14.30)	931	204	220	681	30	26	2 092	3.27	146.29
chr14 (14.25)	729	128	173	371	35	34	1 470	2.30	103.16
chr15 (14.21)	634	129	163	379	37	36	1 378	2.15	96.97
chr16 (14.16)	593	83	164	409	20	12	1 281	2.00	90.47
chr17 (14.05)	579	99	159	386	40	12	1 275	1.99	90.75
chr18 (13.92)	671	132	162	455	23	13	1 456	2.27	104.60
chr19 (13.51)	770	158	190	440	74	21	1 653	2.58	122.35
chr20 (13.47)	536	95	156	350	19	10	1 166	1.82	86.56
chr21 (13.37)	642	123	174	379	24	20	1 362	2.13	101.87
chr22 (13.18)	781	166	387	419	26	12	1 791	2.80	135.89
chr23 (12.50)	460	77	148	274	113	9	1 081	1.69	86.48
chr24 (12.34)	876	159	190	465	25	23	1 738	2.71	140.84
chr25 (11.99)	707	169	175	391	32	20	1 494	2.33	124.60
chr26 (11.84)	573	86	145	314	16	14	1 148	1.79	96.96
chr27 (11.30)	653	128	185	398	38	6	1 408	2.20	124.60
chr28 (10.94)	736	156	143	609	96	22	1 762	2.75	161.06
chr29 (10.85)	787	133	179	454	26	16	1 595	2.49	147.00
chr30 (10.85)	669	206	130	592	42	27	1 666	2.60	153.55
chr31 (9.21)	590	115	134	518	55	19	1 431	2.24	155.37
chrUn	5 011	1 069	1 598	4 372	260	260	12 570	19.63	–

Mono-、Di-、Tri-、Tetra-、Penta-和 Hexa-分别代表单碱基、二碱基、三碱基、四碱基、五碱基和六碱基。下表同。

Mono-, Di-, Tri-, Tetra-, Penta- and Hexa- represent mononucleotide, dinucleotide, trinucleotide, tetranucleotide, pentanucleotide and hexanucleotide, reseparately. The same below.

给出了各染色体所含有的微卫星总数、比例、相对丰度以及 6 类完美微卫星的数量等信息。为了进一步验证微卫星数量与染色体长短的关系，本研究对染色体长度和其微卫星的数量进行了相关性检验，结果显示当染色体越长时，其微卫星的数量越多，两者呈正相关关系（相关系数 r=0.764，显著性水平 P<0.01）。

2.2.2　完美微卫星在基因组不同位置的分布

通过对完美微卫星进行定位分析（表 5），发现微卫星在基因组的不同位置并非均匀分布。其中大量微卫星位于基因间区（Intergenic region），共有 47 714 个，约占微卫星总数的 74.52%，而位于基因区的微卫星仅有 16 311 个，约占 25.48%。在基因区，位于外显子 Exon 区的微卫星只有 208 个，仅占微卫星总数的 0.33%，而位于内含子 Intron 区的微卫星有 16 103 个，占微卫星总数的 25.15%。通过对基因间区、内含子区和外显子区微卫星类型的统计分析，发现不同区域其微卫星类型呈现着不同的分布规律，其中基因间区和内含子区均以单碱基微卫星（45.57%；43.54%）和四碱基微卫星（29.81%；31.29%）为主，其余依次为三碱基（11.41%；12.96%）、二碱基（8.97%；8.99%）、五碱基（2.77%；1.96%）和六碱基微卫星（1.47%；1.26%），而外显子区则以三碱基微卫星（155）为主，占该区域微卫星总数的 74.52%，其余类型微卫星包括单碱基（14.42%）、二碱基（2.41%）、四碱基（6.73%）和五碱基微卫星（0.48%）的比例则远远小于其在基因间区、内含子区以及全基因组范围内的比例。

2.3　完美微卫星位于外显子区的基因 GO 注释和富集分析

外显子是基因的编码区，其通过编码蛋白质而作为基因行使功能的重要部分，所以本研究对微卫星定位到外显子的基因进行 GO 注释和富集分析，进一步探究微卫星位于外显子的基因的功能。定位于外显子的 208 个微卫星分布于 196 个基因，对这 196 个基因进行 GO 注释，其中有 132 个基因被成功注释，所得 GO 条目为 357 个，WEGO 分析发现，有 122 个条目归于细胞组分，占 34.18%；117 个条目与分子功能有关，占 32.77%；118 个条目参与到生物学过程中，占 33.05%。其中细胞组分主要与细胞部分（Cell part，GO:0044464）和细胞（Cell，GO:0005623）有关，分子功能主要与连接（Binding，GO:0005488）有关，生物学过程主要与细胞过程（Cellular process，GO:0009987）、生物调控（Biological regulation，GO:0065007）和代谢过程（Metabolic process，GO:0008152）有关（图 2）。GO 条目富集前 15 条结果主要与磷酸酶和激酶活性等分子功能以及 RNA 聚合酶Ⅱ介导的转录等生物学过程有关（表 6），这为研究微卫星位于外显子的基因的功能提供数据支持。

3　讨论

本研究对草地贪夜蛾全基因组完美微卫星的分布规律进行了统计分析，其总体相对丰度为 126.60 loci/Mb，经过对比发现均低于德国小蠊

表 5　6 类完美微卫星在基因组不同位置的分布情况

Table 5　Distribution of 6 types of perfect SSRs at different regions of genome

位置 Location		总数 Total	单碱基 Mono-	二碱基 Di-	三碱基 Tri-	四碱基 Tetra-	五碱基 Penta-	六碱基 Hexa-
基因间区 Intergenic region		47 714	21 741 (45.57%)	4 281 (8.97%)	5 444 (11.41%)	14 225 (29.81%)	1 322 (2.77%)	701 (1.47%)
基因区 Genic region	外显子区 Exon	208	30 (14.42%)	5 (2.41%)	155 (74.52%)	14 (6.73%)	1 (0.48%)	3 (1.44%)
	内含子区 Intron	16 103	7 011 (43.54%)	1 448 (8.99%)	2 086 (12.96%)	5 039 (31.29%)	316 (1.96%)	203 (1.26%)

括号内的数字表示 3 个区域各类型完美微卫星的比例。

The number in parenthesis represents the proportion of each type of P-SSRs in the three regions.

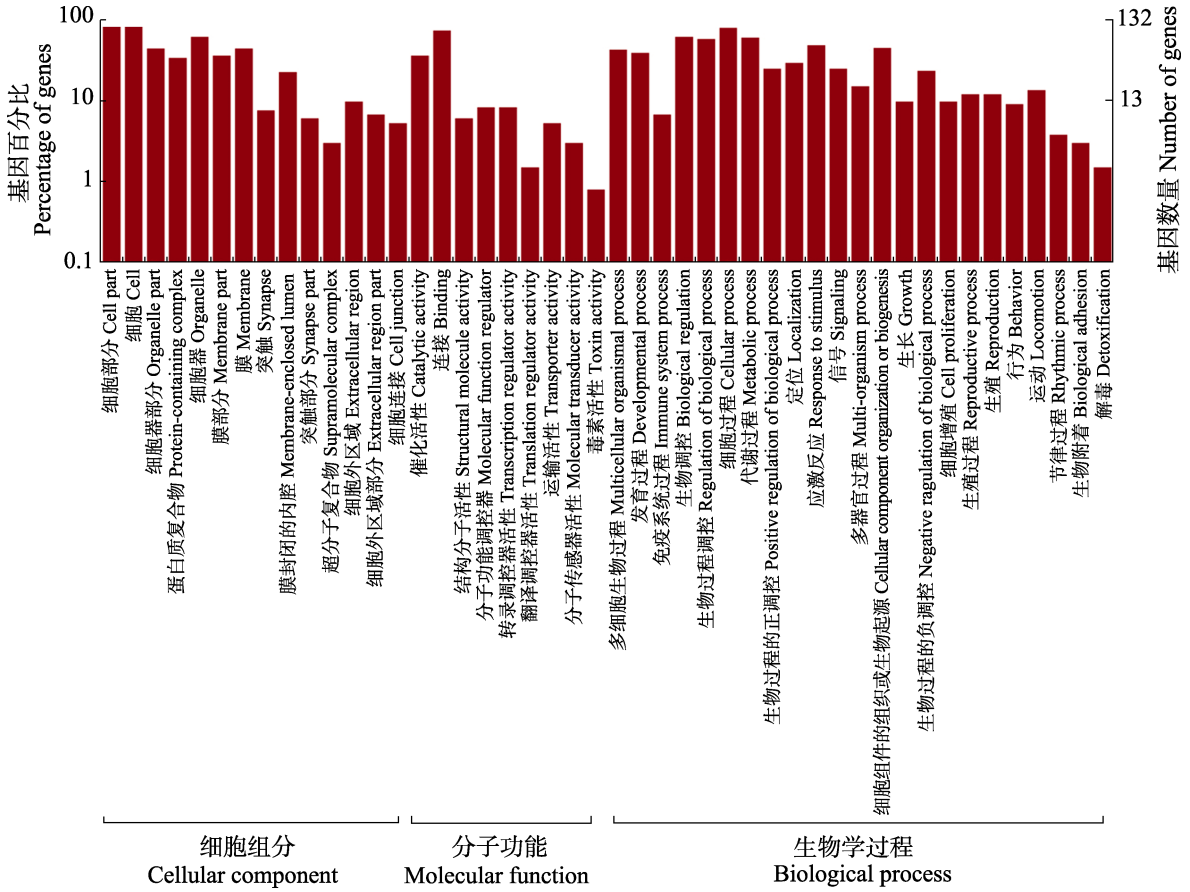

图 2　草地贪夜蛾完美微卫星位于外显子的基因 GO 功能注释

Fig. 2　The GO function annotation of the genes containing perfect SSRs in the exon regions of *Spodoptera frugiperda*

表 6　草地贪夜蛾完美微卫星位于外显子的基因 GO 富集

Table 6　The GO enrichment of the genes containing perfect SSRs in the exon regions of *Spodoptera frugiperda*

条目 Term	描述 Description	基因数量 Gene counts	*P*（矫正值）*P*.adjust
GO:0006367	RNA 聚合酶Ⅱ启动子的转录起始 Transcription initiation from RNA polymerase Ⅱ promoter	6	0.006 337
GO:0004143	二酰基甘油激酶活性 Diacylglycerol kinase activity	3	0.017 991
GO:0002218	先天免疫反应的激活 Activation of innate immune response	3	0.017 991
GO:0004438	磷脂酰肌醇-3-磷酸酶活性 Phosphatidylinositol-3-phosphatase activity	3	0.017 991
GO:0070419	非同源端连接复合物 Nonhomologous end joining complex	3	0.017 991
GO:0004016	腺苷酸环化酶活性 Adenylate cyclase activity	3	0.017 991
GO:0051123	RNA 聚合酶Ⅱ预启动复合物的组装 RNA polymerase Ⅱ preinitiation complex assembly	3	0.017 991
GO:0051259	蛋白质复合物寡聚 Protein complex oligomerization	4	0.017 991
GO:0006366	RNA 聚合酶Ⅱ介导的转录 Transcription by RNA polymerase Ⅱ	6	0.017 991
GO:0030332	细胞周期蛋白绑定 Cyclin binding	3	0.017 991
GO:0071481	细胞对 X 射线的反应 Cellular response to X-ray	3	0.017 991
GO:0045893	转录正调控，DNA 模板化 Positive regulation of transcription, DNA-templated	9	0.017 991
GO:0004725	蛋白酪氨酸磷酸酶活性 Protein tyrosine phosphatase activity	5	0.017 991
GO:0003951	NAD^+激酶活性 NAD^+ kinase activity	3	0.020 109
GO:0031965	核膜 Nuclear membrane	7	0.021 216

Blattella germanica（王晨等，2015）、中华按蚊 *Anopheles sinensis*（王小婷等，2016）、西方蜜蜂 *Apis mellifera*（魏朝明等，2007）和赤拟谷盗 *Tribolium castaneum*（张琳琳等，2008）完美微卫星的总相对丰度（表 7），同时研究发现家蚕 *Bombyx mori*、小菜蛾 *Plutella xylostella*、菜粉蝶 *Pieris rapae*、烟草天蛾 *Manduca sexta*、棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 和帝王蝶 *Danaus plexippus*6 种鳞翅目昆虫完美微卫星的总相对丰度（甘丽萍等，2019）也低于以上 4 种昆虫，这与鳞翅目昆虫中微卫星丰度相对偏低的研究结果一致（Nève and Meglécz，2000；吉亚杰和张德兴，2004）。草地贪夜蛾各类完美微卫星的分布情况与家蚕、小菜蛾、菜粉蝶、烟草天蛾、棉铃虫和帝王蝶等鳞翅目昆虫以及双翅目（Diptera）中华按蚊、蜚蠊目（Blattaria）德国小蠊、膜翅目（Hymenoptera）西方蜜蜂和鞘翅目（Coleoptera）赤拟谷盗等其他目昆虫完美微卫星的分布情况均具有一定的差异（表 7），这说明完美微卫星在各昆虫间具有不同的分布特征，可能与物种本身、基因组大小和基因组碱基组成等方面有关。

草地贪夜蛾完美微卫星中单碱基微卫星的数量最多，占总数的 44.95%，其次是四碱基微卫星（30.11%），而三碱基、二碱基、五碱基和六碱基微卫星的数量依次递减，分别占 12.0%、8.96%、2.56%和 1.42%。而在 Arias 等（2011）研究中所列出的 187 个微卫星拷贝类别，其中二碱基微卫星（109 个）是富集结果中最多的微卫星类型，占其总数的 58.29%，其余类型微卫星的数量均比较少，表 8 展示了该文章中所列出的微卫星重复单元及其数量，与本研究中各类型微卫星在全基因组中的比例有较大差异，这可能是由于富集法很难覆盖到整个基因组。因此，相较于微卫星富集文库的方法，高通量测序技术和生物信息学软件的结合，更能为筛选高质量微卫星

表 7　11 种昆虫基因组中各类型完美微卫星的分布

Table 7　Distribution of each types of perfect SSRs in 11 insect genomes

物种 Species	基因组（Mb）Genome	GC 含量（%）GC content	总相对丰度（loci/Mb）Relative abundance	6 类完美微卫星的相对丰度（loci/Mb）						参考文献 References
				单碱基 Mono-	二碱基 Di-	三碱基 Tri-	四碱基 Tetra-	五碱基 Penta-	六碱基 Hexa-	
草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda*	542.42	36.52	126.60	56.91	11.34	15.20	38.12	3.24	1.79	本研究
家蚕 *Bombyx mori*	397.69	37.80	208.67	107.11	24.32	31.37	39.24	5.79	0.84	甘丽萍等, 2019
帝王蝶 *Danaus plexippus*	248.58	32.10	169.80	59.86	70.53	19.39	16.20	3.15	0.67	甘丽萍等, 2019
棉铃虫 *Helicoverpa armigera*	337.09	37.50	77.75	25.33	6.36	18.22	24.63	2.39	0.82	甘丽萍等, 2019
烟草天蛾 *Manduca sexta*	419.42	35.90	97.94	26.60	14.38	25.48	28.13	2.23	1.12	甘丽萍等, 2019
菜粉蝶 *Pieris rapae*	245.89	33.00	95.72	13.37	27.30	21.73	30.38	2.53	0.41	甘丽萍等, 2019
小菜蛾 *Plutella xylostella*	289.75	39.05	161.36	27.03	18.59	46.15	50.92	12.55	6.12	甘丽萍等, 2019
中华按蚊 *Anopheles sinensis*	290		365.5	202.9	104.60	52.10	5.30	0.40	0.20	王小婷等, 2016
德国小蠊 *Blattella germanica*	2 040		296.66	69.29	29.88	111.36	73.80	10.59	1.74	王晨等，2015
西方蜜蜂 *Apis mellifera*	181.35		1 243.75	263.50	334.11	169.72	136.52	32.21	307.69	魏朝明等, 2007
赤拟谷盗 *Tribolium castaneum*	159.70		274.20	12.84	4.63	39.37	37.71	9.87	169.78	张琳琳等, 2008

表 8 微卫星富集文库得到的微卫星

Table 8 Microsatellites derived from SSR-enriched libraries

重复类型 Repeat types	重复单元 Motif	重复类型 Repeat types	重复单元 Motif
二碱基 Di-	AC (93)	四碱基 Tetra-	ACTG (4)
	AG (14)		AGTC (1)
	CG (2)		ATAC (1)
三碱基 Tri-	ATC (22)		ACAT (3)
	ACT (5)		ATGT (3)
	AAT (2)		AGTG (2)
	AAG (9)		AAAG (1)
	AGA (1)		AACG (1)
	ACC (4)		ACGG (1)
	CGT (1)		ACTT (1)
	AAC (2)		AGGT (1)
	ATT (2)		ATAA (1)
	AGC (2)		ATAG (1)
	CCG (2)	五碱基 Penta-	ACACC (2)
	AGG (1)	六碱基 Hexa-	ACTGCT (1)
	AGT (1)		

数据来源于 Arias 等（2011）文献。

Data from Arias *et al*.(2011).

标记提供大量的数据基础并且能较完整地呈现微卫星在物种全基因组上的分布规律，进而为研究其分布规律与亲缘远近的关系以及从微卫星层面上解析整个基因组的进化提供可能。

草地贪夜蛾完美微卫星的单碱基、二碱基、三碱基、四碱基、五碱基和六碱基微卫星重复拷贝次数的主要分布范围分别在 12-40 次、7-30 次、5-15 次、4-20 次、4-10 次和 4-11 次，这表明随着微卫星重复类别碱基数目的增加，微卫星偏好的重复拷贝次数范围逐渐变小。同时发现各类型微卫星的数量随着微卫星重复拷贝次数的增加而递减。这与王晨等（2015）对德国小蠊全基因组微卫星研究的结果相一致，可能与微卫星的长度有关，微卫星越长，突变率越高，所受到的选择压力大，存在时间短，易于变成较短的微卫星（刘菁菁等，2011）。研究表明相较于长片段微卫星，较短的微卫星相对稳定，是比较理想的分子标记（Temnykh *et al*.，2001）。

除 23、28 和 30 号染色体，6 类完美微卫星在其余染色体上的分布规律较一致，均以单碱基微卫星为主，其后依次是四碱基、三碱基、二碱基、五碱基和六碱基微卫星，这与其在基因组中的整体分布情况相一致。同时微卫星的数量与染色体长度呈正相关关系，该结果进一步支持了微卫星数目与染色体大小有关的这一假说（Hancock，1996）。完美微卫星在基因组不同位置的分布规律表明，微卫星在物种基因组中并非均匀分布，大部分微卫星位于基因间区（74.52%），仅有少部分位于基因内含子区（25.15%）和外显子区（0.33%），这与微卫星主要分布于基因间区的普遍特性是相一致的。尽管基因区的微卫星比例较少，但若外显子或内含子的微卫星发生变异，其可能造成的变异要远远大于基因间区微卫星的变异（王小婷等，2016）。同时进一步分析发现在外显子区域内三碱基微卫星的比例远远高于其他类型微卫星，这可能与密码子是由三碱基组成有关，因为三碱基微卫星的存在不会对阅读框造成太大改变，对表达产物的影响较小，有利于维持物种的稳定（柳莹等，2014）。

外显子是基因行使其编码功能的重要区域，本研究对微卫星位于外显子的基因进行了功能分析。共有 208 个微卫星位于外显子区并分布于 196 个基因上，对 196 个基因进行功能注释，结果有 132 个基因得到了 GO 注释，所得 GO 条目有 357 个，其中涉及细胞组分、分子功能和生物学过程的 GO 条目的比例较一致，分别占 34.18%，32.77%和 33.05%，GO 富集条目则主要与磷酸酶和激酶活性等分子功能以及 RNA 聚合酶 II 介导的转录等生物学过程有关。

本研究对草地贪夜蛾全基因组完美微卫星序列的种类、数量、相对丰度以及位置分布等特征进行分析和研究，对草地贪夜蛾基因组的串联重复序列有了初步了解。这将有助于草地贪夜蛾的分子生态学研究，包括入侵种群遗传结构、起源地、入侵路径、传播方式和微进化等的分析研究，以期了解在复杂农业生态系统中决定其遗传分化的因素，进而改进当地的综合害虫管理实践。

参考文献 (References)

Arias RS, Blanco CA, Portilla M, Snodgrass GL, Scheffler BE, 2011.

First microsatellites from *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and their potential use for population genetics. *Annals of the Entomological Society of America*, 104(3): 576–587.

CABI, 2019. Fall Armyworm Portal. https://www.cabi.org/ISC/fallarmyworm.

Chapman D, Purse BV, Roy HE, Bullock JM, 2017. Global trade networks determine the distribution of invasive non-native species. *Global Ecology and Biogeography*, 26(8): 907–917.

Day R, Abrahams P, Bateman M, Beale T, Clottey V, Cock M, Colmenarez Y, Corniani N, Early R, Godwin J, Gomez J, Moreno PG, Murphy ST, Oppong-Mensah B, Phiri N, Pratt C, Silvestri S, Witt A, 2017. Fall armyworm: Impacts and implications for Africa. *Outlooks on Pest Management*, 28(5): 196–201.

Du LM, Zhang C, Liu Q, Zhang XY, Yue BS, 2018. Krait: An ultrafast tool for genome-wide survey of microsatellites and primer design. *Bioinformatics*, 34(4): 681–683.

Duan XL, Wang K, Su S, Tian RZ, Li YT, Chen MH, 2017. De novo transcriptome analysis and microsatellite marker development for population genetic study of a serious insect pest, *Rhopalosiphum padi* (L.) (Hemiptera: Aphididae). *PLoS ONE*, 12(2): e0172513.

Gan LP, Tian H, Tang H, Li H, 2019. Distribution regularities of SSR in the whole genomes of the six Lepidoptera insects. *Genomics and Applied Biology*, http://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1369.Q.20190906.1548.004.html. [甘丽萍, 田辉, 唐恒, 李豪, 2019. 6 种鳞翅目昆虫全基因组 SSR 分布规律. 基因组学与应用生物学, http://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1369.Q.20190906.1548.004.html.]

Ge SS, He LM, He W, Xu RB, Sun XT, Wu KM, 2019. Determination on moth flight capacity of *Spodoptera frugiperda*. *Plant Protection*, 45(4): 28–33. [葛世帅, 何莉梅, 和伟, 徐瑞斌, 孙晓婷, 吴孔明, 2019. 草地贪夜蛾的飞行能力测定. 植物保护, 45(4): 28–33.]

Goergen G, Kumar PL, Sankung SB, Togola A, Tamò M, 2016. First report of outbreaks of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae), a new alien invasive pest in west and central Africa. *PLoS ONE*, 11(10): e0165632.

Gorman MJ, Severson DW, Cornel AJ, Collins FH, Paskewitz SM, 1997. Mapping a quantitative trait locus involved in melanotic encapsulation of foreign bodies in the malaria vector, *Anopheles gambiae*. *Genetics*, 146(3): 965–971.

Guo JF, He KL, Wang ZY, 2019a. Biological characteristics, trend of fall armyworm *Spodoptera frugiperda*, and the strategy for management of the pest. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 56(3): 361–369. [郭井菲, 何康来, 王振营, 2019a. 草地贪夜蛾的生物学特性、发展趋势及防控对策. 应用昆虫学报, 56(3): 361–369.]

Guo JF, Jing DP, Tai HS, Zhang AH, He KL, Wang ZY, 2019b. Morphological characteristics of *Spodoptera frugiperda* in comparison with three other lepidopteran species with similar injury characteristics and morphology in cornfields. *Plant Protection*, 45(2): 7–12. [郭井菲, 静大鹏, 太红坤, 张爱红, 何康来, 王振营, 2019b. 草地贪夜蛾形态特征及与 3 种玉米田为害特征和形态相近鳞翅目昆虫的比较. 植物保护, 45(2): 7–12.]

Guo JF, Zhao JZ, He KL, Zhang F, Wang ZY, 2018. Potential invasion of the crop-devastating insect pest fall Armyworm *Spodoptera frugiperda* to china. *Plant Protection*, 44(6): 1–10. [郭井菲, 赵建周, 何康来, 张峰, 王振营, 2018. 警惕危险性害虫草地贪夜蛾入侵中国. 植物保护, 44(6): 1–10.]

Hacker M, Kaib M, Bagine RKN, Epplen JT, Brandl R, 2005. Unrelated queens coexist in colonies of the termite *Macrotermes michaelseni*. *Molecular Ecology*, 14(5): 1527–1532.

Hancock JM, 1996. Simple sequences and the expanding genome. *Bioessays*, 18(5): 421–425.

Ji YJ, Zhang DX, 2004. Characteristics of microsatellite DNA in lepidopteran genomes and implications for their isolation. *Acta Zoologica Sinica*, 50(4): 608–614. [吉亚杰, 张德兴, 2004. 鳞翅目昆虫基因组中微卫星 DNA 的特征以及对其分离的影响. 动物学报, 50(4): 608–614.]

Li MH, 2006. Construction of the SSR linkage map of silkworm, *Bombyx mori* and genes mapping. Doctoral dissertation, Shanghai: Chinese Academy of Sciences. [李明辉, 2006. 家蚕 SSR 分子遗传图的构建及基因定位的研究. 博士学位论文. 上海: 中国科学院.]

Liu JJ, Dai XG, Wang J, Li SX, Yin TM, 2011. Effect of microsatellites on gene expression level and characteristics of expressed SSRs in poplars. *Journal of Nanjing Forestry University*, 35(1): 11–14. [刘菁菁, 戴晓港, 王洁, 李淑娴, 尹佟明, 2011. 杨树微卫星序列对基因表达频率的影响及表达序列中微卫星特征的分析. 南京林业大学学报, 35(1): 11–14.]

Liu Y, Tang YZ, Gao L, 2014. The research progress on evolution of microsatellites. *Genomics and Applied Biology*, 33(6): 1391–1400. [柳莹, 唐永政, 高丽, 2014. 微卫星 DNA 进化特征研究进展. 基因组学与应用生物学, 33(6): 1391–1400.]

Lu H, Tang JH, Lü BQ, Ma ZL, He X, Chen Q, Su H, 2019. Recent advances in biological control and invasion risk of *Spodoptera frugiperda*. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 40(6): 1237–1244. [卢辉, 唐继洪, 吕宝乾, 马子龙, 何杏, 陈琪, 苏豪, 2019. 草地贪夜蛾的生物防治及潜在入侵风险. 热带作物学报, 40(6): 1237–1244.]

Lu T, Wang C, Du C, Liu S, Shen YM, Zhang XY, Yue BS, 2017. Distribution regularity of microsatellites in *Moschus berezovskii* genome. *Sichuan Journal of Zoology*, 36(4): 420–424. [卢婷, 王晨, 杜超, 刘姝, 沈咏梅, 张修月, 岳碧松, 2017. 林麝全基因组微卫星分布规律研究. 四川动物, 36(4): 420–424.]

Montezano DG, Specht A, Sosa-Gómez DR, Roque-Specht VF, Sousa-Silva JC, Paula-Moraes SV, Peterson JA, Hunt TE, 2018. Host plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas. *African Entomologist*, 26(2): 286–301.

Morgat A, Lombardot T, Coudert E, Axelsen K, Neto TB, Gehant S,

Bansal P, Bolleman J, Gasteiger E, de Castro E, Baratin D, Pozzato M, Xenarios L, Poux S, Redaschi N, Bridge A, The UniProt Consortium, 2019. Enzyme annotation in UniProtKB using Rhea. *Bioinformatics*, doi: 10.1093/bioinformatics/btz817.

Nève G, Meglécz E, 2000. Microsatellite frequencies in different taxa. *Trends in Ecology & Evolution*, 15(9): 376–377.

Prasanna BM, Huesing JE, Eddy R, Peschke VM, 2018. Fall armyworm in Africa: A guide for integrated pest management. Manuals. CABI, https://www.usaid.gov/sites/default/files/documents/1867/Fall-Armyworm-IPM-Guide-for-Africa-Jan_30-2018.pdf.

Shi SF, 2009. Genetic diversity, population structure and gene flow of *Helicoverpa armigera* (Hübner) in China. Master dissertation. Nanjing: Nanjing Agricultural University. [石仕福, 2009. 棉铃虫种群的遗传多样性与基因流研究. 硕士学位论文. 南京：南京农业大学.]

Sparks AN, 1979. A review of the biology of the fall armyworm. *The Florida Entomologist*, 62(2): 82–87.

Sunnucks P, England PR, Taylor AC, Hales DF, 1996. Microsatellite and chromosome evolution of parthenogenetic *Sitobion aphids* in Australia. *Genetics*, 144(2): 747–756.

Tang P, Wang ZZ, Wu Q, Liu YQ, Shi M, Huang JH, Chen XX, 2019. The natural enemies of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* and their application in biological control programs. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 56(3): 370–381. [唐璞, 王知知, 吴琼, 刘银泉, 时敏, 黄健华, 陈学新, 2019. 草地贪夜蛾的天敌资源及其生物防治中的应用. 应用昆虫学报, 56(3): 370–381.]

Temnykh S, DeClerck G, Lukashova A, Lipovich L, Cartinhour S, McCouch S, 2001. Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa* L.): Frequency, length variation, transposon associations, and genetic marker potential. *Genome Research*, 11(8): 1441–1452.

Thiel T, Michalek W, Varshney R, Graner A, 2003. Exploiting EST databases for the development and characterization of gene-derived SSR-markers in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theoretical & Applied Genetics*, 106(3): 411–422.

Tóth G, Gáspári Z, Jurka J, 2000. Microsatellites in different eukaryotic genomes: Survey and analysis. *Genome Research*, 10(7): 967–981.

Trontti K, Aron S, Sundström L, 2005. Inbreeding and kinship in the ant *Plagiolepis pygmaea*. *Molecular Ecology*, 14(7): 2007–2015.

Wang C, Du LM, Li P, Yang MY, Li WJ, Shen YM, Zhang XY, Yue BS, 2015. Distribution patterns of microsatellites in the genome of the German cockroach (*Blattella germanica*). *Acta Entomologica Sinica*, 58(10): 1037–1045. [王晨, 杜联明, 李鹏, 杨茗羽, 李午佼, 沈咏梅, 张修月, 岳碧松, 2015. 德国小蠊全基因组中微卫星分布规律. 昆虫学报, 58(10): 1037–1045.]

Wang XT, Zhang YJ, He X, Mei T, Chen B, 2016. Identification, characteristics and distribution of microsatellites in the whole genome of *Anopheles sinensis* (Diptera: Culidae). *Acta Entomologica Sinica*, 59(10): 1058–1068. [王小婷, 张玉娟, 何秀, 梅婷, 陈斌, 2016. 中华按蚊全基因组微卫星的鉴定、特征及分布规律. 昆虫学报, 59(10): 1058–1068.]

Wang YZ, Cao LJ, Zhu JY, Wei SJ, 2016. Development and characterization of novel microsatellite markers for the peach fruit moth *Carposina sasakii* (Lepidoptera: Carposinidae) using next-generation sequencing. *International Journal of Molecular Sciences*, doi: 10.3390/ijms17030362.

Weber JL, 1990. Informativeness of human $(dC\text{-}dA)_n\cdot(dG\text{-}dT)_n$ polymorphisms. *Genomics*, 7(4): 524–530.

Wei ZM, Kong GY, Lian ZM, Liu H, Fan YW, Zhang H, 2007. Abundance and distribution of microsatellites in the entire *Apis mellifera* genome. *Chinese Bulletin of Entomology*, 44(4): 501–504. [魏朝明, 孔光耀, 廉振民, 刘惠, 范永文, 张惠, 2007. 蜜蜂全基因组中微卫星的丰度及其分布. 昆虫知识, 44(4): 501–504.]

Westbrook JK, Nagoshi RN, Meagher RL, Fleischer SJ, Jairam S, 2016. Modeling seasonal migration of fall armyworm moths. *International Journal of Biometeorology*, 60(2): 255–267.

Wilson ACC, Sunnucks P, Hales DF, 1999. Microevolution, low clonal diversity and genetic affinities of parthenogenetic *Sitobion aphids* in New Zealand. *Molecular Ecology*, 8(10): 1655–1666.

Wu KM, 2020. Management strategies of fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) in China. *Plant Protection*, 46(2): 1–5. [吴孔明, 2020. 中国草地贪夜蛾的防控策略. 植物保护, 46(2): 1–5.]

Yang XM, Zhao SY, Jiang YY, Wu KM, 2020. Population occurrence and sampling technique of fall armyworm *Spodoptera frugiperda* in barley field. *Plant Protection*, 46(2): 18–23. [杨现明, 赵胜园, 姜玉英, 吴孔明, 2020. 大麦田草地贪夜蛾的发生为害及抽样技术. 植物保护, 46(2): 18–23.]

Ye J, Zhang Y, Cui HH, Liu JW, Wu YQ, Cheng Y, Xu HX, Huang XX, Li ST, Zhou A, Zhang XQ, Bolund L, Chen Q, Wang J, Yang HM, Fang L, Shi CM, 2018. WEGO 2.0: A web tool for analyzing and plotting GO annotations, 2018 update. *Nucleic Acids Research*, 46(W1): W71–W75.

Yu GC, Wang LG, Han YY, He QY, 2012. ClusterProfiler: An R package for comparing biological themes among gene clusters. *OMICS: A Journal of Integrative Biology*, 16(5): 284–287.

Zhang LL, Wei ZM, Lian ZM, Kong GY, 2008. Abundance of microsatellites in the entire genome and EST of *Tribolium castaneum*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 45(1): 38–42. [张琳琳, 魏朝明, 廉振民, 孔光耀, 2008. 赤拟谷盗全基因组和 EST 中微卫星的丰度. 应用昆虫学报, 45(1): 38–42.]

Zhu Y, Xue YB, Liu HZ, Li XA, 2012. Genomic microsatellites of *Apis mellifera* L. from genetic linkage map for species to populations from different geographic regions. *Apiculture of China*, 63(Z4): 12–16. [朱玉, 薛运波, 刘洪章, 李兴安, 2012. 基于基因组微卫星的西方蜜蜂遗传图谱和西方蜜蜂地方类群. 中国蜂业, 63(Z4): 12–16.]