草地贪夜蛾 *CYP4G15* 和 *CYP4L4* 的时空表达及其对高低温胁迫的响应*

商 暾[1**] 杨茂发[1, 2***] 于晓飞[2] 陈亦钗[1] 田太安[1]

（1. 贵州大学昆虫研究所，贵州山地农业病虫害重点实验室，贵阳 550025；2. 贵州大学烟草学院，贵阳 550025）

摘 要 **【目的】** 为明确草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 在高低温胁迫条件下 *CYP4G15* 和 *CYP4L4* 是否参与调控。**【方法】** 本研究采用 RT-PCR 方法检测 *CYP4G15* 和 *CYP4L4* 在草地贪夜蛾各发育阶段和不同组织以及在 36 ℃高温和 4 ℃低温条件下的表达情况。**【结果】** *CYP4G15* 和 *CYP4L4* 基因均在草地贪夜蛾低龄时表达量最高；*CYP4G15* 在表皮组织中表达量最高；*CYP4L4* 在前肠组织中表达量最高；在高温和低温胁迫条件下，两个基因均存在差异表达。**【结论】** *CYP4G15* 和 *CYP4L4* 可能参与草地贪夜蛾体内多种内源物质合成以及受高温、低温胁迫的代谢过程。

关键词 草地贪夜蛾；温度胁迫；*CYP4G15*；*CYP4L4*；差异表达

Spatiotemporal expression of *CYP4G15* and *CYP4L4* and their response to high and low temperature stress in *Spodoptera frugiperda*

SHANG Tun[1**] YANG Mao-Fa[1, 2***] YU Xiao-Fei[2] CHEN Yi-Chai[1] TIAN Tai-An[1]

(1. Institute of Entomology, Guizhou Provincial Key Laboratory for Agricultural Pest Management of the Mountainous Region, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 2. College of Tobacco Science, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract **[Objectives]** To explore whether *CYP4G15* and *CYP4L4* are involved in the response to high and low temperature stress in *Spodoptera frugiperda*. **[Methods]** The expression of *CYP4G15* and *CYP4L4* were detected by RT-PCR at 36 ℃ and 4 ℃ in different developmental stages and tissues. **[Results]** Expression of both genes was highest in young larvae. Expression of *CYP4G15* was highest in the epidermis, whereas that of *CYP4L4* was highest in the foregut. The two genes were differentially expressed at high and low temperatures. **[Conclusion]** *CYP4G15* and *CYP4L4* may be involved in the synthesis of various endogenous substances in *S. frugiperda*, as well as metabolic processes under high and low temperature stress.

Key words *Spodoptera frugiperda*; temperature stress; *CYP4G15*; *CYP4L4*; differential expression

草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 属鳞翅目夜蛾科，又名秋粘虫。该虫具有很强的迁飞能力，且繁殖能力强、危害程度重，是我国重要的农业害虫（王磊等，2019）。自 2019 年 1 月入侵我国以来，草地贪夜蛾快速扩散至我国 26 省（区、市）1 518 个县（区、市），严重危害我国玉米、甘蔗、高粱等重要农作物（姜玉英等，2019）。目前在草地贪夜蛾的治理方法中，仍以化学防治为主要防治手段，即便是种植 Bt 玉米，仍然需要化学防治作为辅佐（Burtet *et al.*，2017）。

温度是影响草地贪夜蛾生长发育及繁殖的关键因子，温度的变化会影响昆虫体内诸多酶的活性和酶反应速率，从而影响昆虫在冷热应激下的代谢过程（鲁智慧等，2019；谢殿杰等，2019）。

*资助项目 Supported projects：2019 年贵州省农业生产防灾救灾资金（农作物病虫害防治专项）；贵州省高层次创新型人才（“百”层次）培养项目（黔科合人才[2016]4022 号）；贵州省烟草公司遵义市公司“烟草关键夜蛾类害虫灯诱技术研究与应用”（201705）

**第一作者 First author，E-mail：shangtunlym@yeah.net

***通讯作者 Corresponding author，E-mail：gdgdly@126.com

收稿日期 Received：2020-08-22；接受日期 Accepted：2020-12-24

在高温或低温胁迫条件下，许多基因家族参与昆虫体内的代谢过程，其中细胞色素 P450 是一个典型的代谢家族（Zhang *et al.*，2018）。20 世纪 60 年代初，细胞色素 P450 酶在家蝇 *Musca domestica* 中首次被发现，是广泛存在于生物体内的完整膜保守蛋白的超家族多功能氧化酶（Feyereisen *et al.*，1989；宋展等，2020）。细胞色素 P450 酶主要参与昆虫内源性物质（蜕皮激素、保幼激素、信息激素等）的生物合成与外源性物质（杀虫剂、植物次生代谢物等）的代谢过程（顾晓军等，2013；金敏娜和林欣大，2014）。除此之外，研究表明细胞色素 P450 与机体响应温度胁迫有关（苏明明，2016），如多年生黑麦草 *Perennial ryegrass* 在高低温胁迫条件下，黑麦草 CYP51、CYP71、CYP72 等亚家族中大量基因显著上调或显著下调（代娅，2016）；单睿阳等（2018）在茶树 *Camellia sinensis* 中发现茶树 *CYP71A26* 不管在高温或低温胁迫条件下表达量均下降，*CYP71B34* 均上升，且随着诱导时间延长，基因的表达量上升或下降越显著，这一结果说明 *CYP71A26* 和 *CYP71B34* 能够响应外界温度胁迫的应答。Q 烟粉虱 *Bemisia tabaci* Q 受高温胁迫后，大量细胞色素 P450 基因呈现不同程度的上调或下调，同时，Q 烟粉虱对噻虫嗪的耐药性随着细胞色素 P450 基因相对表达量的变化而变化（苏明明，2016）；卢穗华（2018）通过对家蝇在 18、28、38 ℃ 3 个温度条件下进行转录组测序分析，发现不管在 18 ℃还是 38 ℃相对于家蝇正常生长温度来说均有大量细胞色素 P450 基因显著上调或下调，除此之外，还有一些基因在高温和低温条件下表达量均下调。诸多研究表明细胞色素 P450 与机体调控温度的代谢过程息息相关。因此，研究高低温胁迫条件下，草地贪夜蛾细胞色素 P450 基因表达的诱导效应，对评估其在抵抗外界高低温胁迫条件下细胞色素 P450 基因的作用机制有重要意义。

研究表明 *CYP4G15* 和 *CYP4L4* 能够被一些非生物因子诱导表达（Zhang *et al.*，2016；Cui *et al.*，2019；Tian *et al.*，2019）。Tian 等（2019）在对亚洲柑橘木虱 *Diaphorina citri* 的转录组分析中，发现经吡虫啉胁迫后 *CYP4G15* 的表达量显著上调。Zhang 等（2016）发现经氟虫腈胁迫后，红火蚁 *Solenopsis invicta* 体内 *CYP4G15* 表达量也显著上调。Cui 等（2019）在对草地贪夜蛾的转录组分析中，发现 *CYP4G15* 和 *CYP4L4* 的表达量均能被哈尔明碱诱导上调。诸多研究表明，*CYP4G15* 和 *CYP4L4* 对非生物胁迫有明显的响应。然而，温度作为一种重要的环境胁迫因子，*CYP4G15* 和 *CYP4L4* 在昆虫中能否被其诱导表达，目前尚无相关研究报道。因此，本研究在 Cui 等（2019）报道的哈尔明碱对草地贪夜蛾 27 个 P450 基因表达影响的基础上，从中选择了 2 个可能被高温和低温诱导表达的 *CYP4G15* 和 *CYP4L4*，采用 RT-PCR 方法检测 *CYP4G15* 和 *CYP4L4* 在草地贪夜不同组织、不同生长发育时期的表达模式，以及在高低温胁迫条件下 *CYP4G15* 和 *CYP4L4* 基因在草地贪夜蛾体内的表达水平。为了解草地贪夜蛾响应高低温胁迫的作用机制提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　供试昆虫

草地贪夜蛾幼虫采自贵州省遵义市凤冈县进化镇罗二塘村（北纬 27°46′46″，东经 107°40′27″），在室内人工气候箱（RXZ 型，宁波江南仪器厂）中饲养。幼虫饲喂玉米叶，成虫饲喂 10%蜂蜜水作为补充营养。人工气候箱设置条件：温度（25±1）℃、相对湿度 75%±5%、光周期 L：D=14：10。

1.2　方法

1.2.1　样本处理　将草地贪夜蛾的卵、1-6 龄幼虫、蛹、成虫（卵为 3 日龄，其余虫态均为 1 日龄）和成虫不同组织（脂肪体、马氏管、表皮、前肠、中肠、后肠）分别放入液氮速冻后置于 - 80 ℃冰箱备用。将草地贪夜蛾雌雄成虫分别放入温度为（36±1）℃的人工气候箱和（4±1）℃的冰箱中处理 30、60、90、120、150 min 后，立即用液氮速冻并放入 - 80 ℃冰箱保存备用，

以人工气候箱饲养温度（25±1）℃为对照组。每个处理样本 3 头，3 次重复。

1.2.2 RNA 提取与 cDNA 第一链合成 按照 Eastep Super Total RNA Extraction Kit（普洛麦格北京生物技术有限公司）试剂盒中方法提取待测样本总 RNA，用 1%琼脂糖凝胶电泳（韦克斯科技北京有限公司）和超微量紫外分光光度仪（美国 Bio-rad 公司）检测 RNA 的质量和浓度。再以高质量总 RNA 为模板，按照 HiFiScript cDNA Synthesis Kit（贵州爱瑞特鼎国生物有限公司）反转录试剂盒说明书进行 cDNA 第一链合成，存入 - 20 ℃冰箱备用。

1.2.3 草地贪夜蛾 *CYP4G15* 和 *CYP4L4* 的表达分析 基于 NCBI 数据库草地贪夜蛾 *CYP4G15*（GenBank 登录号：MN480657.1）和 *CYP4L4*（GenBank 登录号：MN480659.1）mRNA 序列用 NCBI 中 Primer-BLAST 工具分别设计一对引物 qCYP4G15-F、qCYP4G15-R 和 qCYP4L4-F、qCYP4L4-R（表 1），以草地贪夜蛾不同龄期、不同组织和高低温处理后 cDNA 为模板，选用核糖体蛋白 L27（ribosomal protein L27, RPL27）基因（Karamipour *et al.*，2018）作为内参基因：RPL27-F 和 RPL27-R（表 1），反应体系 20 μL：SYBR Green Supermix（TAKARA 公司）10 μL，cDNA 1 μL，正反向引物各 1 μL, ddH_2O 7 μL。反应条件：95 ℃ 30 s；95 ℃ 5 s，57 ℃ 30 s，40 循环；65 ℃ 5 s。采用 RT-PCR 方法检测 *CYP4G15* 和 *CYP4L4* 的时空表达模式和高低温处理后的差异表达。

1.2.4 数据处理 将实验所得数据利用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法对草地贪夜蛾 *CYP4G15* 和 *CYP4L4* 的表达进行相对定量分析（Livak and Schmittgen，2001）。使用 Microsoft Office Excel 2007 处理 Cq 值，将 Cq 值采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析，以 Tukey 法在 0.05 水平上检验各处理之间的差异显著性。用 Graghpad Prism 8.0 软件作图。

表 1 本文所用引物

Table 1 Primers used in this article

引物名称 Primers name	引物序列（5′-3′） Primers sequences	引物用途 Usage of primers
qCYP4L4-F qCYP4L4-R	CGAGGCAAGACAAAGCACTG TTTCAGCCAGCAGCAACAAG	用于 RT-PCR 检测 *CYP4L4* 表达 *CYP4L4* expression was detected by RT-PCR
qCYP4G15-F qCYP4G15-R	CGGTCTGGTAGCAGTTGTGT AAGCCACCCTCGAATCACAG	用于 RT-PCR 检测 *CYP4G15* 表达 *CYP4G15* expression was detected by RT-PCR
RPL27-F RPL27-R	GAAGCCAGGTAAAGTGGTGCT GTGTCCGTAGGGCTTGTCTG	用于 RT-PCR 检测内参基因表达 Reference gene expression was detected by RT-PCR

2 结果与分析

2.1 草地贪夜蛾 *CYP4G15* 和 *CYP4L4* 的时空表达

在室温条件下，*CYP4G15* 和 *CYP4L4* 在草地贪夜蛾各个发育阶段均有表达且存在显著差异（P<0.01，图 1）。*CYP4G15* 在草地贪夜蛾 2 龄幼虫和 3 龄幼虫时表达量最高，显著高于其它发育阶段（$F_{8, 26}$=42.617，P<0.01），而其它发育阶段之间的表达量无显著差异。*CYP4L4* 的表达量在 1 龄幼虫期最高，显著高于其它发育阶段（$F_{8, 26}$=182.782，P<0.01），其次是 3 龄幼虫和 6 龄幼虫，显著高于其余虫期，表达量最低的是卵，显著低于 1 龄、2 龄、3 龄和 6 龄虫期，而 2 龄幼虫、4 龄幼虫、5 龄幼虫、蛹和成虫之间的表达量无显著差异。

在室温条件下，*CYP4G15* 和 *CYP4L4* 基因在草地贪夜蛾体内各组织间均有表达且存在较大差异（图 2）。*CYP4G15* 基因的表达量最高的是表皮，显著高于其它组织（$F_{5, 17}$=242.133，P<0.01），其次是马氏管，显著高于在脂肪体、前肠、中肠和后肠的表达量，而在脂肪体、前肠、中肠和后肠组织间的表达量无显著差异。

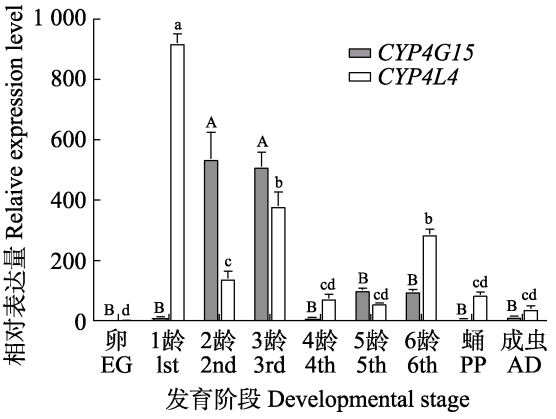

图 1　*CYP4G15* 和 *CYP4L4* 在草地贪夜蛾各发育阶段的表达

Fig. 1　The expression of *CYP4G15* and *CYP4L4* in developmental stages of *Spodoptera frugiperda*

卵：3 日龄的卵；1-6 龄：各龄期 1 日龄的幼虫；蛹：1 日龄的蛹；成虫：1 日龄的成虫。

EG: 3-day-old egg; 1st-6th instars larva: Day-1 larva of each instars; PP: 1-day-old pupa; AD: 1-day-old adult.

图中数据为平均值 ± 标准差，柱上标有大写（小写）字母表示 *CYP4G15*（*CYP4L4*）表达差异显著（P<0.05，Tukey 检验法）。下图同。

Data in the figure are mean ± SD, histograms with capital (lowercase) letters indicate significant differential expression of *CYP4G15* (*CYP4L4*) at the 0.05 level by Tukey test. The same below.

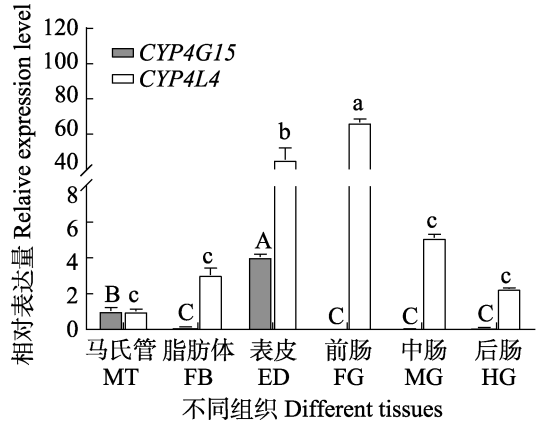

图 2　*CYP4G15* 和 *CYP4L4* 在草地贪夜蛾成虫不同组织的表达

Fig. 2　The expression of *CYP4G15* and *CYP4L4* in different tissues of *Spodoptera frugiperda* adulthood

马氏管 MT：Malpighian tubule; 脂肪体 FB：Fat body; 表皮 ED：Epidermis; 前肠 FG：Foregut; 中肠 MG：Midgut; 后肠 HG：Hindgut.

CYP4L4 表达量最高的是前肠，显著高于其它组织（$F_{5,17}$=99.584，P<0.01）；其次是表皮，显著高于马氏管、脂肪体、中肠和后肠的表达量，而马氏管、脂肪体、中肠和后肠组织间表达水平无差异显著。

2.2　高低温胁迫下草地贪夜蛾 *CYP4G15* 和 *CYP4L4* 的表达分析

在 4 ℃低温条件下，草地贪夜蛾雌雄成虫中 *CYP4G15* 的表达水平因低温处理时间的不同而发生变化（图 3：A）。与对照相比，经低温处理 30、60、90、120 和 150 min 后雌虫中 *CYP4G15* 基因的表达水平均下调，且与对照之间存在显著性差异（$F_{5,17}$=24.140，P<0.01）。但在相同条件下，雄虫中 *CYP4G15* 基因的表达水平呈先上升后下降的趋势，其表达量在低温处理 90 min 达到最高，是对照组的 3.95 倍。

相同条件下，草地贪夜蛾雌成虫体内 *CYP4L4* 的表达量经低温处理 30、60、90 和 150 min 显著高于对照（$F_{5,17}$=4.541，P<0.05），对照组与经低温处理时间 120 min 之间 *CYP4L4* 基因的表达量差异不显著（图 3：B）。雄虫体内 *CYP4L4* 的表达量先上升后下降，低温处理 60 min 时表达量最高，且显著高于其余处理组（$F_{5,17}$=27.843，P<0.01）。

在 36 ℃高温条件下，草地贪夜蛾雌雄成虫中 *CYP4G15* 的表达水平也存在差异（图 4：A）。雌虫中 *CYP4G15* 的表达量经高温处理 120 min 后表达量最高，且显著高于除经高温处理 90 min 外的其余处理组（$F_{5,17}$=10.584，P<0.01）。相同条件下，雄虫中 *CYP4G15* 的表达水平先上升后下降，高温处理 60 min 后表达量最高，为 CK 组的 18.83 倍，高温处理 90 min 后表达量次之，为 CK 组的 17.42 倍。

相同条件下，*CYP4L4* 在雌雄成虫中的表达量差异较大（图 4：B）。雌虫中 *CYP4L4* 的表达量在经高温处理 120 min 时表达量最高，且显著高于其余处理组（$F_{5,17}$=10.690，P<0.01），为 CK 组的 1.54 倍。雄虫体内 *CYP4L4* 的表达量先上升后下降，经高温处理 120 min 后表达量最高，为

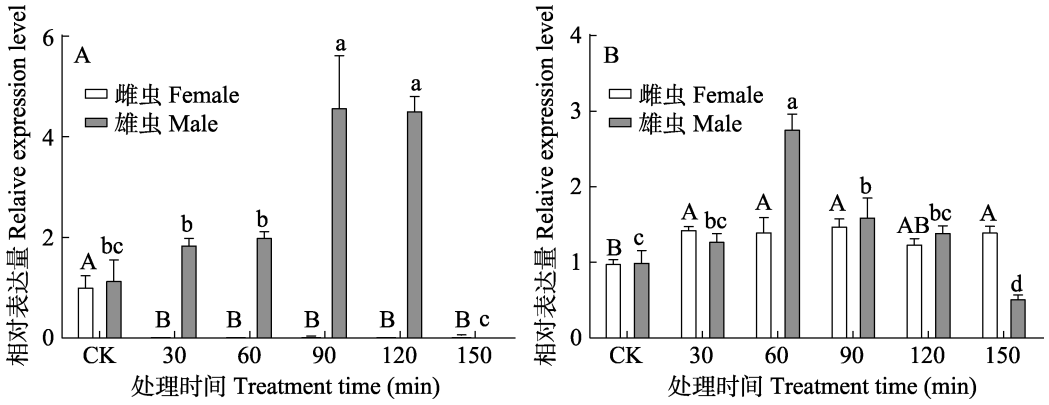

图 3　低温胁迫下草地贪夜蛾 *CYP4G15* 和 *CYP4L4* 的表达

Fig. 3　The expression of *CYP4G15* and *CYP4L4* in *Spodoptera frugiperda* under low temperature stress

A. 低温胁迫下草地贪夜蛾 *CYP4G15* 的表达；B. 低温胁迫下草地贪夜蛾 *CYP4L4* 的表达。柱上标有大写（小写）字母表示两基因在雌虫（雄虫）中表达差异显著（P<0.05，Tukey 检验法）。下图同。

A. The expression of *CYP4G15* in *Spodoptera frugiperda* under low temperature stress; B. The expression of *CYP4L4* in *Spodoptera frugiperda* under low temperature stress. Histograms with capital (lowercase) letters indicate significant differential expression of two genes in female (male) at the 0.05 level by Tukey test. The same below.

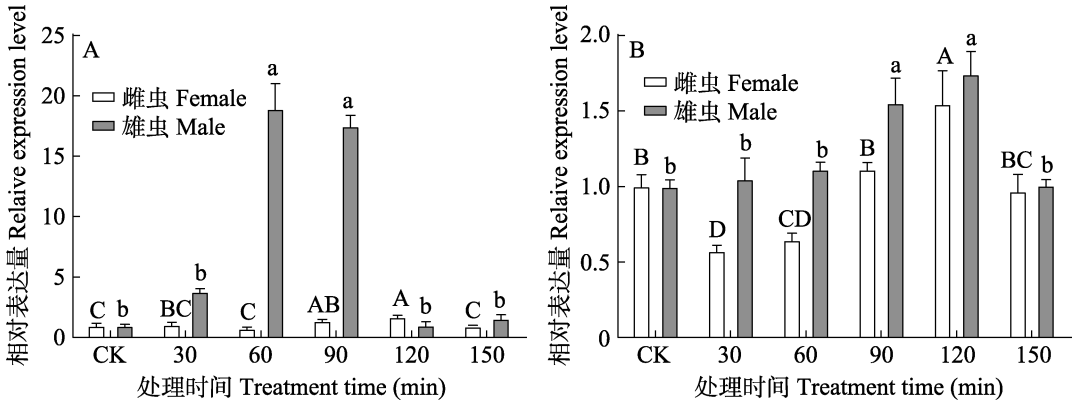

图 4　高温胁迫下草地贪夜蛾 *CYP4G15* 和 *CYP4L4* 的表达

Fig. 4　The expression of *CYP4G15* and *CYP4L4* in *Spodoptera frugiperda* under high temperature stress

A. 高温胁迫下草地贪夜蛾 *CYP4G15* 的表达；B. 高温胁迫下草地贪夜蛾 *CYP4L4* 的表达。

A. The expression of *CYP4G15* in *Spodoptera frugiperda* under high temperature stress; B. The expression of *CYP4L4* in *Spodoptera frugiperda* under high temperature stress.

CK 组的 1.74 倍；高温处理 90 min 次之，为 CK 组的 1.56 倍，且高温处理 120 和 90 min 显著高于其它处理组（$F_{5, 17}$=8.851，P<0.01）。

3　讨论

细胞色素 P450 是广泛存在于生物体内的完整膜保守蛋白的超家族多功能氧化酶（Feyereisen *et al.*，1989；宋展等，2020），可在生物发育过程和昆虫对外界胁迫因子的解毒作用中起着非常重要的作用（Mansuy，1998；Hannemann *et al.*，2007；Isin and Guengerich，2007）。本研究采用 RT-PCR 方法测定了草地贪夜蛾 *CYP4G15* 和 *CYP4L4* 的时空表达模式。结果显示，两基因在草地贪夜蛾低龄幼虫期表达量较高，而成虫期的表达量相对较低，推测这两个基因在草地贪夜蛾低龄幼虫的发育过程中起着重要作用。这一结果与 Londoño 等（2007）关于摇蚊 *Chironomus tentans CYP4G33* 基因的表达模式一致。有研究表明细胞色素 P450 基因存在特异性表达，如家蝇的 *CYP6D1* 只在成虫期表达（万东光，2008），

棉铃虫 *Helicoverpa armigera CYP6B2* 基因只在幼虫期表达（徐永强，2009），这意味着细胞色素 P450 基因在不同昆虫不同生长发育阶段起不同作用。本研究发现，*CYP4G15* 在草地贪夜蛾表皮组织表达量最高，在马氏管中表达量次之。*CYP4L4* 在草地贪夜蛾前肠组织中表达量最高，在表皮组织中表达量次之，两个基因都在其余组织中有表达但相对较少。这一结果与 Chung 等（2009）关于黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster CYP6G1*、*CYP4E3* 的表达模式相似。有研究表明不同基因在昆虫不同组织中表达量，可能意味着它们在各个组织中执行不同的功能（ Maïbèche -Coisne *et al.*，2010）。如甘蓝夜蛾 *Mamestra brassicae CYP4S4* 仅在触角表达，表明该基因对甘蓝夜蛾嗅觉起作用，相比之下，*CYP4L4* 不仅在甘蓝夜蛾触角有表达，还在其腿部和喙有表达，表明 *CYP4L4* 对甘蓝夜蛾嗅觉和味觉起作用（Maïbèche-Coisne *et al.*，2010）。在本研究中，*CYP4G15* 和 *CYP4L4* 均在草地贪夜蛾表皮组织有较高表达量，可能是由于其表皮附有感受器官，是与外界环境直接接触的重要部位，导致 *CYP4G15* 和 *CYP4L4* 的高表达。除此之外，*CYP4L4* 在前肠中表达量最高，*CYP4G15* 在马氏管中表达量仅次于表皮，这是因为在昆虫生长发育和代谢过程中细胞色素 P450 具有重要作用。如前肠、中肠是昆虫进行消化吸收的主要场所（Senger *et al.*，2006）；马氏管参与昆虫体内水分和离子的调控（Beyenbach *et al.*，2010）；脂肪体可代谢糖类、脂类及蛋白质，同时也是激素作用的靶标组织（Hou *et al.*，2010）等。

低温胁迫可导致昆虫的耐寒性增强，昆虫是通过调节体内生理生化反应来改变体内水分、糖类以及高分子蛋白类等物质的含量和改变细胞结构及其内环境、一系列酶的活性来应对低温胁迫（陈永杰等，2005；陈瑜和马春森，2010）。高温对昆虫正常生命活动有巨大的影响，可减少昆虫体内失水、改变细胞内离子浓度、生物大分子（蛋白质、DNA、RNA 和酶等）的结构和功能等（杜尧等，2007）。本研究采用 RT-PCR 方法检测了草地贪夜蛾 *CYP4G15* 和 *CYP4L4* 在高低温胁迫条件下的表达情况。结果显示，在 4 ℃低温处理条件下，草地贪夜蛾雌成虫 *CYP4G15* 的表达量均下调，说明在雌虫体内，低温胁迫条件可抑制 *CYP4G15* 的表达，该结果与潘磊等（2020）关于褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 经低温处理后，*NlHsp20.9*、*NlHsp22.4* 和 *NlHsp28.7* 等小分子量热激蛋白基因表达量下调结论一致。而 *CYP4L4* 的表达量均上调，说明低温能够诱导该基因表达。 Zhang 等（2018）通过对莲草直胸跳甲 *Agasicles hygrophila* 受高温胁迫后的转录组分析中，大量 P450 基因显著上调。这一结果与本研究一致。除此之外，4 ℃低温条件下雄成虫 *CYP4G15* 和 *CYP4L4* 的表达量先上升后下降。同时在 36 ℃高温条件下，雌雄成虫 *CYP4G15* 和 *CYP4L4* 的表达量均是先上升后下降。这可能是由于 *CYP4G15* 和 *CYP4L4* 对草地贪夜蛾的保护作用存在阈值，当胁迫对机体的损伤超出这个阈值时，基因的表达量就会下降。如 Q 烟粉虱体内 *CYP6V5*、*CYP6DZ7* 和草地贪夜蛾体内 *Hsp90* 在温度胁迫下，也呈现先上升后下降的趋势（苏明明，2016；周吕等，2020）。这也说明 *CYP4G15* 和 *CYP4L4* 可能参与草地贪夜蛾耐寒性和耐热性的代谢过程。

随着全球温度升高，昆虫对温度胁迫的适应性将直接影响其种群密度，而细胞色素 P450 基因的表达量与昆虫对温度胁迫的耐受性与环境适应性息息相关。本研究初步阐明了 *CYP4G15* 和 *CYP4L4* 在草地贪夜蛾适应温度胁迫条件下的作用，为进一步研究昆虫响应温度胁迫的机制提供理论依据。

参考文献 (Referneces)

Beyenbach KW, Skaer H, Dow JAT, 2010. The developmental, molecular, and transport biology of malpighian tubules. *Annual Review of Entomology*, 55: 351–374.

Burtet LM, Bernardi O, Melo AA, Pes MP, Strahl TT, Guedes JV, 2017. Managing fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), with Bt maize and insecticides in southern Brazil. *Pest Management Science*, 73(12): 2569–2577.

Chen Y, Ma CS, 2010. Effect of global warmingon insect: A literature review. *Acta Ecologica Sinica*, 30(8): 2159–2172. [陈

瑜, 马春森, 2010. 气候变暖对昆虫影响研究进展. 生态学报, 30(8): 2159–2172.]

Chen YJ, Sun XG, Zhang WG, Mou ZG, Guo GZ, 2005. Relation between variation of water, fat, glycerol in vivo of over-wintering *Diaphania pyloalis* Walker larvae and cold-hardiness. *Science of Sericulture*, 31(1): 22–25. [陈永杰, 孙绪艮, 张卫光, 牟志刚, 郭光智, 2005. 桑螟越冬幼虫体内水分、脂肪、甘油的变化与抗寒性的关系. 蚕业科学, 31 (1): 22–25.]

Chung H, Sztal T, Pasricha S, Sridhar M, Batterham P, Daborn PJ, 2009. Characterization of *Drosophila melanogaster* cytochrome P450 genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(14) : 5731–5736.

Cui GF, Sun RR, Veeran S, Shu BS, Yuan HQ, Zhong GH, 2019. Combined transcriptomic and proteomic analysis of harmine on *Spodoptera frugiperda* Sf9 cells to reveal the potential resistance mechanism. *Journal of Proteomics*, https://doi. org/10. 1016/j. jprot. 2019. 103573.

Dai Y, 2016. Analysis of the difference of P450 family gene expression and *LpCYP72A161* methylation in *Perennial ryegrass* under temperature stress. Master dissertation. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences. [代娅, 2016. 温度胁迫下多年生黑麦草 P450 家族基因表达及 *LpCYP72A161* 甲基化差异分析. 硕士学位论文. 北京: 中国科学院大学.]

Du Y, Ma CS, Zhao QH, Ma G, Yang HP, 2007. Effects of heat stress on physiological and biochemical of insects: A literature review. *Acta Ecologica Sinica*, 27(4): 1565–1572. [杜尧, 马春森, 赵清华, 马罡, 杨和平, 2007. 高温对昆虫影响的生理生化作用机理研究进展. 生态学报, 27(4): 1565–1572.]

Feyereisen R, Koener JF, Farnsworth DE, Nebert DW, 1989. Isolation and sequence of cDNA encoding a cytochrome P450 from an insecticide-resistant strain of the house fly, *Musca domestica*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86(5): 1465–1469.

Gu XJ, Tian SF, Wei H, 2013. Endocrine disruption and pest control-juvenile hormone as an example. *World Science and Technology Research and Development*, 35(1): 109–114. [顾晓军, 田素芬, 魏辉, 2013. 内分泌干扰与害虫控制-以保幼激素为例. 世界科技研究与发展, 35(1): 109–114.]

Hannemann F, Bichet A, Ewen KM, Bernhardt R, 2007. Cytochrome P450 systems-biological variations of electron transport chains. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1770(3): 330–344.

Hou Y, Zou Y, Wang F, Gong J, Zhong X, Xia Q, Zhao P, 2010. Comparative analysis of proteome maps of silkworm hemolymph during different developmental stages. *Proteome Science*, 8(1): 45–54.

Isin EM, Guengerich FP, 2007. Complex reactions catalyzed by cytochrome P450 enzymesIsin. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1770(3): 314–329.

Jiang YY, Liu J, Xie MC, Li YH, Yang JJ, Zhang ML, Qiu K, 2019. Observation on law of diffusion damage of *Spodoptera frugiperda* in China in 2019. *Plant Protection*, 45(6): 10–19. [姜玉英, 刘杰, 谢茂昌, 李亚红, 杨俊杰, 张曼丽, 邱坤, 2019. 2019 年我国草地贪夜蛾扩散为害规律观测. 植物保护, 45(6): 10–19.]

Jin MN, Lin XD, 2014. Molecular mechanisms of the insect juvenile hormone. *Acta Ecologica Sinica*, 34(6): 1361–1370. [金敏娜, 林欣大, 2014. 保幼激素在昆虫中的分子作用机理. 生态学报, 34(6): 1361–1370.]

Karamipour N, Fathipour Y, Talebi AA, Asgari S, Mehrabadi M, 2018. Small interfering RNA pathway contributes to antiviral immunity in *Spodoptera frugiperda* (Sf9) cells following *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus infection. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 101: 24–31.

Livak KJ, Schmittgen TD, 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods*, 25(4): 402–408.

Londoño DK, Siqueira HAA, Wang H, Sarath G, Lydy MJ, Siegfried BD, 2007. Cloning and expression of an atrazine inducible cytochrome P450, *CYP4G33*, from *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 89(2): 104–110.

Lu SH, 2018. Transcriptome and differential expression of *Musca domestica* larvae under temperature stress. Master dissertation. Guangzhou: Guangzhou University. [卢穗华, 2018. 温度胁迫下家蝇幼虫转录组和差异表达研究. 硕士学位论文. 广州: 广州大学.]

Lu ZH, He SQ, Yan NS, Zhao WJ, Yao WF, Chen YP, Yang T, Jiang YY, Gui FR, 2019. Effects of temperatures on the development and reproduction of fall armyworm (*Spodoptera frugiperda* Smith). *Plant Protection*, 45(5): 27–31, 53. [鲁智慧, 和淑琪, 严乃胜, 赵文杰, 姚万福, 陈亚平, 杨通, 姜玉英, 桂富荣, 2019. 温度对草地贪夜蛾生长发育及繁殖的影响. 植物保护, 45(5): 27–31, 53.]

Maïbèche-Coisne M, Jacquin-Joly E, François MC, Nagnan-Le MP, 2010. cDNA cloning of biotransformation enzymes belonging to the cytochrome P450 family in the antennae of the noctuid moth *Mamestra brassicae*. *Insect Molecular Biology*, 11(3): 273–281.

Mansuy D, 1998. The great diversity of reactions catalyzed by cytochromes P450. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 121(1/3): 5–14.

Pan L, Wang LH, Zhu F, Han YC, Wang P, Fang JC, 2020.

Expression profiles and functions of small heat shock proteins in *Nilaparvata lugens*. *Chinese Journal of Rice Science*, 34(1): 37–45. [潘磊, 王利华, 朱凤, 韩阳春, 王培, 方继朝, 2020. 褐飞虱小分子量热激蛋白基因表达特性和功能. 中国水稻科学, 34(1): 37–45.]

Senger K, Harris K, Levine M, 2006. GATA factors participate in tissue-specific immune responses in *Drosphila* larvae. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(43): 15957–15962.

Shan RY, Lin ZH, Chen ZH, Zhong QS, You XM, Chen CS, 2018. Molecular cloning and expression analysis of Cytochrome P450 *CYP71A26* and *CYP71B34* genes in tea plants (*Camellia sinensis*). *Journal of Tea Science*, 38(5): 450–460. [单睿阳, 林郑和, 陈志辉, 钟秋生, 游小妹, 陈常颂, 2018. 茶树细胞色素 P450 基因 *CYP71A26* 与 *CYP71B34* 的克隆及差异表达特征分析. 茶叶科学, 38(5): 450–460.]

Song Z, Gao X, Wu M, Lu FP, Qin HM, 2020. Structure, function, and application of cytochrome P450 enzymes. *Microbiology China*, 47(7): 2245–2254. [宋展, 高鑫, 吴冕, 路福平, 秦慧民, 2020. 细胞色素 P450 酶的结构、功能与应用研究进展. 微生物学通报, 47(7): 2245–2254.]

Su MM, 2016. Effects of high-temperature stress on resistance of *Bemisia tabaci* Q to insecticides and mechanism. Master dissertation. Qingdao: Qingdao Agricultural University. [苏明明, 2016. 高温胁迫对 Q 烟粉虱耐药性的影响及其机理. 硕士学位论文. 青岛: 青岛农业大学.]

Tian FJ, Li CF, Wang ZB, Liu JL, Zeng XN, 2019. Identification of detoxification genes in imidacloprid-resistant Asian citrus psyllid (Hemiptera: Lividae) and their expression patterns under stress of eight insecticides. *Pest Management Science*, 75(5): 1400–1410.

Wan DG, 2008. Gene evolution and the analysis in bioinformatics based on CYP4 gene family of insect. Master dissertation. Shandong: Shandong Agricultural University. [万东光, 2008. 基于昆虫 CYP4 家族的基因进化和生物信息学分析. 硕士学位论文. 山东: 山东农业大学.]

Wang L, Chen KW, Zhong GH, Xian JD, He XF, Lu YY, 2019. Progress for occurrence and management and the strategy of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Smith). *Journal of Environmental Entomology*, 41(3): 479–487. [王磊, 陈科伟, 钟国华, 冼继东, 何晓芳, 陆永跃, 2019. 重大入侵害虫草地贪夜蛾发生危害、防控研究进展及防控策略探讨. 环境昆虫学报, 41(3): 479–487.]

Xie DJ, Zhang L, Cheng YX, Jiang XF, 2019. Age-stage two-sex life table for laboratory populations of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* at different temperatures. *Plant Protection*, 45(6): 20–27. [谢殿杰, 张蕾, 程云霞, 江幸福, 2019. 不同温度下草地贪夜蛾年龄-阶段实验种群两性生命表的构建. 植物保护, 45(6): 20–27.]

Xu YQ, 2009. Molecular cloning, sequence analysis and expression of cytochrome P450 gene in *Tribolium castaneum* (Herbst). Master dissertation. Chongqing: Southwest Uniwersity. [徐永强, 2009. 赤拟谷盗细胞色素 P450 基因的克隆、序列分析及表达研究. 重庆: 西南大学.]

Zhang BZ, Zhang L, Cui RK, Zeng XN, Gao XW, 2016. Cloning and expression of multiple cytochrome P450 genes: Induction by fipronil in workers of the red imported fire ant (*Solenopsis invicta* Buren). *PLoS ONE*, 11(3): e0150915.

Zhang H, Zhao MT, Liu YR, Zhou ZS, Guo JY, 2018. Identification of cytochrome P450 monooxygenase genes and their expression in response to high temperature in the alligatorweed flea beetle *Agasicles hygrophila* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Scientific Reports*, 8(1): 1–13.

Zhou L, Meng JY, Yang CL, Li J, Hu CX, Zhang CY, 2020. Cloning of heat shock protein gene *SfHsp90* and its expression under high and low temperature and UV-A stresses in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Entomologica Sinica*, 63(5): 533–544. [周吕, 孟建玉, 杨昌利, 李锦, 胡朝兴, 张长禹, 2020. 草地贪夜蛾热激蛋白基因 *SfHsp90* 的克隆及在高低温和 UV-A 胁迫下的表达分析. 昆虫学报, 63(5): 533–544.]