

米象 GST 基因的表达及其对磷化氢的应答

叶侃, 胡飞, 魏兆军* (合肥工业大学生物与食品科技学院, 安徽合肥 230009)

摘要 分析米象代谢解毒相关基因谷胱甘肽硫转移酶(GST)的表达, 获得米象基因遗传信息, 进而从本质上全面揭示米象的磷化氢抗性。米象敏感品系经磷化氢不同浓度熏蒸和不同时间熏蒸处理, 2 个基因经 LC_{30} 浓度磷化氢熏蒸的相对表达量显著高于其他 2 个浓度; 4 个 GSTs 基因经 LC_{50} 浓度磷化氢熏蒸的相对表达量显著高于对照组和 LC_{30} 、 LC_{10} 处理组; 3 个基因相对表达量均显著低于对照组。7 个 GSTs 基因随着熏蒸时间的增加, 相对表达量逐渐升高。米象 GSTs 基因在不同发育阶段的相对表达模式中, *SoGSTd1* 基因在四龄幼虫阶段的相对表达量最高; *SoGSTe1* 基因在成虫阶段的相对表达量最高; *SoGSTe2* 和 *SoGSTe5* 基因在四龄幼虫阶段的相对表达量最大, *SoGSTe6* 基的相对表达量在三龄幼虫阶段最大。米象 13 个 GSTs 基因在不同组织部位的相对表达模式中。米象 13 个 GSTs 基因中的 11 个在中肠、脂肪体或马氏管中的相对表达量均显著高于头部和表皮中的表达量。

关键词 米象; 谷胱甘肽硫转移酶; 磷化氢; 基因表达

中图分类号 S433.5 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2019)08-0114-05

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2019.08.029



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Expression Profiles of GST Related Genes and Responses to Phosphine from *Sitophilus oryzae*

YE Kan, HU Fei, WEI Zhao-jun (School of Food Science and Engineering, Hefei University of Technology, Hefei, Anhui 230009)

Abstract Through transcriptome technology, several resistant genes related to *S. oryzae* such as glutathione S-transferase, cytochrome were analyzed and the transcriptome genetic information was obtained, revealing the resistance of insects in nature at transcriptome level is gaining a huge interest among the researchers. The *S. oryzae* sensitive strains of different concentrations of phosphine fumigation and fumigation treatment at different time were investigated. The concentration of two genes was significantly higher than the other two concentrations by the concentration of LC_{30} , and the relative expression of the four GSTs genes was significantly higher than that of the control group and the LC_{30} , LC_{10} treatment group, and the relative expression of the three genes was significantly lower than that of the control group. The relative expression level of 7 GSTs genes increased gradually with the increase of fumigation time. The relative expression of the *SoGSTd1* in the fourinstar stage was the highest in the relative expression pattern of the GSTs gene in the different developmental stages, and the relative expression of the *SoGSTe1* gene in the adult stage was the highest. The relative expression of the *SoGSTe2* and *SoGSTe5* genes in the four instar stage was the largest, and the relative expression of the *SoGSTe6* gene in the three instar larvae was maximum. 13 GSTs genes of *S. oryzae* were differently expression in different tissues. The relative expression level of 13 GSTs genes in midgut, fat body or malpighian tubules in *S. oryzae* was significantly higher than that in the head and cuticle. The relative expression level of 11 genes in the midgut, fat body or malpighian tubules was higher than that in the head and cuticle.

Key words *Sitophilus oryzae*; Glutathione S-transferases; Phosphine; Gene expression

米象(*Sitophilus oryzae*)属于鞘翅目,象虫科,是一种完全变态昆虫。它有卵、幼虫、蛹、成虫 4 个发育形态,是贮藏谷物的主要害虫之一,主要寄生在贮存 2~3 年的陈粮中,例如玉米、水稻、小麦、高粱等谷物中,成虫在外部啃食谷物颗粒,幼虫则寄生在谷物内部蛀食^[1]。由于其地理分布遍布全世界,生长繁殖速度快,因此对贮藏谷物危害严重^[2]。在我国,米象主要生长在南方地区。

我国在 1960 年就为了防治储粮害虫,开始使用磷化氢熏蒸剂,由于磷化氢具有成本低、使用便捷、持续时间长、无明显残留以及对绝大多数害虫、鼠类的杀虫效果明显等优点而被广泛应用,至今仍没有出现比它更高效的熏蒸剂替代物^[3]。到了 90 年代中期,由于熏蒸剂磷化铝的长期使用,一些储粮害虫产生了一定的磷化氢抗性^[4]。根据调查,储粮害虫的磷化氢抗性品系从 20 世纪 60 年代的 3 种发展到 31 种,尤其在米象、谷蠹和扁谷盗中出现了高抗性品种^[5],在印度发现的高抗性米象品系,其 LC_{50} 已经达 1.7 mg/L(熏蒸 20 h)^[6]。我国研究人员于 1988 年测定了 29

种米象,其中 12 种具有抗性,抗性品种约占 40%;1992 年测定的 37 个品系中有 26 种为抗性品种,占比超过 70%^[7]。2004 年对 21 种米象进行研究,13 种米象被发现具有磷化氢抗性^[8]。研究表明,2005 年我国发现 1 种磷化氢抗性米象, LC_{50} 已经达 6.313 mg/L,为敏感品系的 1 034 倍^[9]。结合这些数据,说明米象产生抗药的品种越来越多,并且抗药性越来越强。

细胞色素 P450、谷胱甘肽 S-转移酶和乙酰胆碱酯酶是昆虫体内的三大解毒酶。多年来,已开展了广泛的抗性机制研究,结果表明昆虫抗药性的产生有不同的机制,已公认的包括对杀虫剂暴露的减少、对杀虫剂代谢的增强以及靶标部位敏感性的降低等^[10]。

真核生物拥有多种谷胱甘肽硫转移酶(GST)的不同催化活性,以适应广泛的酶家族功能^[11]。生物体都具有一套精细的防御体系来抵抗外来和内源有害物质。在该体系中, GSTs 的作用十分重要,它常在极端条件发挥抗氧化及解毒作用,从而对生物体起保护作用^[12]。GSTs 的功能非常多样,主要表现为以下 3 个方面:①分解异源有毒物质;②对细胞具有还原作用;③对内源代谢物和外源化合物进行细胞间运输^[13]。

最早, GSTs 是在大鼠中被发现具有活性^[14]。近来,对于哺乳动物和昆虫 GSTs 的研究报道越来越多,并且对昆虫

基金项目 国家自然科学基金项目(31301657)。

作者简介 叶侃(1991—),男,安徽合肥人,硕士研究生,研究方向:生物化学与分子生物学。*通信作者,教授,博士生导师,从事农林特产功能性食品加工、真核生物功能基因表达调控研究。

收稿日期 2018-12-12; **修回日期** 2018-12-27

GSTs 基因家族的结构、功能和进化进行了综述,如针对冈比亚按蚊(*Anopheles gambiae*),克隆得到其 GSTs 基因 28 个,并且已经完成对其测序^[15]。在一些有机磷杀虫剂产生抗性的家蝇中,发现了 GSTs 水平上升^[16]。研究 GSTs 与杀虫剂抗性的关系对防治储粮害虫有重要的理论和实践意义^[17]。昆虫 GSTs 的研究焦点主要集中于杀虫剂抗性。在果蝇和家蝇中证实了 GSTs 基因与磷化氢抗性有关,按蚊中也发现了磷化氢抗性有关的基因,过量表达的重组按蚊 GSTs 基因产物在体外能催化磷化氢降解,大规模全基因组测序的完成使得果蝇和按蚊的 GSTs 研究迅速发展^[18]。

目前已经从二十多种昆虫中克隆得到了近百个 GSTs 基因序列。它们分别属于至少 3 个类别:I 类 GSTs 基因被划分为 Delta,属于昆虫特有的 GSTs^[19]。2007 年,国内发现了家蚕中 1 个由 220 个氨基酸组成的 GST,其结构与果蝇和按蚊中相似,同属 Delta 类^[20];II 类 GSTs 基因包括 Theta、Sigma、Omega 和 Zeta 类;III 类 GSTs 基因也是昆虫特异性的,称为 Epsilon 类。除了这三大类以外,有人认为果蝇中还存在第 4 类 GSTs 基因^[21]。此外,昆虫 GSTs 基因的表达调控也取得了初步进展。其中双翅目昆虫 GSTs 基因水平的研究报道最多,其次是鳞翅目昆虫,其他种类的昆虫研究很少^[22]。笔者分析了米象代谢解毒相关基因谷胱甘肽硫转移酶的表达,获得了米象基因遗传信息,进而从本质上全面揭示米象的磷化氢抗性。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫处理

1.1.1 供试昆虫。试验所用的米象材料采集自河南工业大学农产品储藏实验室。饲养条件为(27±1)℃,相对湿度为(70±5)%。将采集到的米象按不同的虫态(卵、幼虫、蛹、成虫)分别放置,收集试虫,每个虫态收集 300 头,装入灭菌后的 EP 管中,放入-80℃冰箱中保存备用。米象成虫饲养于广口瓶中,用棉布封口,以上述同样条件在培养箱中培养,以备进行后续试验。

1.1.2 磷化氢气体的制备。磷化氢气体是由磷化铝与 10% 的稀硫酸反应制备的,磷化氢浓度用钼兰比色法测定。磷化氢用密封式注射器注入盛有试虫的特制的真空干燥器中。

1.1.3 抗性测定。使用联合国粮农组织(FAO)方法熏蒸处理 20 h(25℃,70%RH)。处理的试虫从干燥器中取出后放置在养虫室内饲养 14 d,检查死亡状况,计算死亡率。

1.1.4 受试米象的逆境处理。

1.1.4.1 不同浓度磷化氢处理。用不同的熏蒸室,磷化氢浓度分别设置为 LC₅₀:0.039 mg/L、LC₃₀:0.030 mg/L 和 LC₁₀:0.005 mg/L,每种浓度设 2 个平行。

1.1.4.2 不同熏蒸时间处理。将磷化氢浓度统一设置为 LC₃₀:0.030 mg/L,熏蒸处理时间设置为 12、24、36 和 48 h,每个时间设 2 个平行。

1.1.5 数据处理。数据是用 SPSS 软件进行分析处理和统计。

1.2 米象转录组分析 通过 Solexa RNA 的 paired-end 测序

方法对各试验样品进行测序,将最短的 reads 片段从头组装成转录组。将得到的 Unigene 与数据库中编码已知功能蛋白的基因序列进行比对,鉴定出 GSTs,细胞色素 P450 以及 EST 基因。

1.3 RACE 反应获得米象代谢解毒基因全长

1.3.1 设计 RACE 引物。根据上一步获得的米象代谢解毒基因部分中间片段,分别设计 5'RACE 和 3'RACE 特异性引物,扩增 5'末端和 3'末端全长序列,并预测长度。

1.3.2 合成 5'RACE 和 3'-RACE-Ready cDNA 模板。为了获得 RACE-Ready cDNA 模板,准备 3'-RACE-Ready cDNA 合成反应体系,共需要 2 个反应管,每管均为 10 μL 反应体系。

1.3.3 米象代谢解毒基因 5'RACE 和 3'RACE 扩增。分别以米象代谢解毒基因 3'-RACE-Ready cDNA 和 5'-RACE-Ready cDNA 做模板,以设计的 PR3-F1 和 PR5-R1 引物与通用引物 UPM,用高保真酶扩增。

1.3.4 序列拼接。5'-RACE 和 3'-RACE 测序后,在 NCBI 数据库中进行序列比对,并用 DNAMAN 软件拼接序列,找到起始密码子 ATG 及终止密码子 TAA,在起始密码子和终止密码子处分别设计特异性引物,扩增出米象代谢解毒基因序列全长,切胶回收后,连接到 pGEM-T Easy Vector 载体上,转化后挑选阳性克隆并测序。

1.3.5 米象代谢解毒全长序列分析。用 Primer 5.0 和 DNAMAN 软件对米象 13 个 GST 基因序列进行分析,根据其他已报道出基因序列的结构特征,分析米象代谢解毒基因。

1.3.6 构建米象代谢解毒基因系统进化树。利用 MEGA 构建系统进化树,依据不同物种的 GST, P450, EST 序列,分别是欧山松大小蠹(*Dendroctonus ponderosae*)、赤拟谷盗(*Tribolium castaneum*)、果蝇属中的 *D. virilis*、*D. willistoni* 和 *D. mojavensis*、豌豆长管蚜(*Acyrtosiphon pisum*)、家蚕(*Bombyx mori*)、柑橘木虱(*Diaphorina citri*)、草白蚁(*Zootermopsis nevadensis*),构建系统进化树。

1.4 米象代谢解毒基因定量表达

1.4.1 RNA 抽提前处理。在冰上解剖不同熏蒸浓度和不同熏蒸时间米象,解剖发育不同时期米象,分别为一龄、二龄、三龄、四龄幼虫、蛹、成虫。解剖米象不同组织:脑(head)、表皮(cuticle)、中肠(MG)、脂肪体(FB)、马氏管(MT),每个样品等量取 3 次样,每个样包括 5 个个体,RNA 抽提步骤同前。

1.4.2 引物设计并且鉴定引物质量。设计荧光定量 PCR 引物,分别对 4 种类型的样品进行荧光定量 PCR 反应以检测这些基因的表达情况。

1.4.3 荧光定量 PCR。稀释样品 cDNA:取 15 μL 样品 cDNA (共 8 组样品)溶解到 30 μL ddH₂O 中,即将样品稀释 4 倍(取 1 μg RNA 进行反转录,25 μL 体系,取 10 ng 左右进行荧光定量 PCR 反应,即要稀释 4 倍后取 1 μL 进行反应)。用荧光染料 SYBR Premix Ex Taq II 配制 20 μL 反应体系,在 96 孔板中加样,在 Bio-RAD Two Color Real-Time PCR Detection System 荧光定量 PCR 仪上进行荧光定量 PCR 反应。

2 结果与分析

2.1 米象 GSTs 基因的分离鉴定 克隆获得米象 GSTs 基因全长序列 13 个,具体信息见表 1。米象 GSTs 基因序列全长

是 811~1 209 bp,5'端非编码区的长度为 51~224 bp,3'端非编码区的长度为 51~345 bp,推测编码的氨基酸是 202~239,分子量为 23.19~27.63 kD,理论等电点为 5.30~8.71。

表 1 米象 13 个 GSTs 基因全长 cDNA 序列信息
Table 1 Information of the full-length cDNA sequence of 13 GSTs genes

基因名称 Gene name	全序列 Complete sequence//bp	5' UTR bp	3' UTR bp	氨基酸 Amino acid	分子量 Molecular weight//kDa	等电点 Isoelectric point
<i>SoGSTd1</i>	1 026	85	290	216	24.30	5.30
<i>SoGSTe1</i>	842	81	107	217	25.05	5.45
<i>SoGSTe3</i>	992	172	163	218	24.85	6.09
<i>SoGSTe4</i>	1 110	131	325	217	24.55	5.59
<i>SoGSTe5</i>	836	134	51	216	24.58	8.71
<i>SoGSTe7</i>	856	83	122	216	24.18	7.71
<i>SoGSTe8</i>	816	78	78	219	24.73	5.96
<i>SoGSTs1</i>	1 017	224	160	210	24.09	5.53
<i>SoGSTs3</i>	908	195	89	207	24.14	8.58
<i>SoGSTs4</i>	811	107	83	206	23.88	5.30
<i>SoGSTs5</i>	834	99	126	202	23.19	8.31
<i>SoGSTt1</i>	844	51	100	230	26.84	7.00
<i>SoGSTt2</i>	1 209	144	345	239	27.63	5.76

根据序列的相似性和进化关系,将其中的 6 个基因归类于 Epsilon 家族(*GSTe1*、*GSTe3*、*GSTe4*、*GSTe5*、*GSTe7*、*GSTe8*),4 个基因归类于 Sigma 家族(*GSTs1*、*GSTs3*、*GSTs4*、*GSTs5*),2 个基因归类于 Theta 家族(*GSTt1*、*GSTt2*),另归类于 Delta 家

族 1 个(*GSTd1*)(表 2)。米象 13 个 GSTs 基因氨基酸序列相似性比对情况见表 2。Epsilon 家族基因间氨基酸相似性为 33.5%~56.0%,Sigma 家族基因间氨基酸相似性为 44.7%~70.3%,Theta 家族基因间氨基酸相似性为 22.2%。

表 2 米象 13 个 GSTs 基因氨基酸序列相似性比对结果
Table 2 Comparison results of amino acid sequences of 13 GSTs genes

基因名称 Gene name	<i>SoGSTd1</i>	<i>SoGSTe1</i>	<i>SoGSTe3</i>	<i>SoGSTe4</i>	<i>SoGSTe5</i>	<i>SoGSTe7</i>	<i>SoGSTe8</i>	<i>SoGSTs1</i>	<i>SoGSTs3</i>	<i>SoGSTs4</i>	<i>SoGSTs5</i>	<i>SoGSTt1</i>	<i>SoGSTt2</i>
<i>SoGSTd1</i>	—	34.1	38.3	34.3	36.2	33.5	36.0	16.7	14.2	16.3	17.1	21.9	31.8
<i>SoGSTe1</i>		—	36.1	38.5	40.8	40.6	39.5	14.1	15.1	13.8	14.5	21.4	28.3
<i>SoGSTe3</i>			—	39.9	38.0	33.5	35.3	17.6	17.6	18.2	17.5	20.0	29.0
<i>SoGSTe4</i>				—	56.0	56.0	54.6	19.6	20.1	19.3	22.1	21.0	32.2
<i>SoGSTe5</i>					—	49.3	47.7	18.6	18.1	18.3	18.1	23.8	33.2
<i>SoGSTe7</i>						—	48.8	18.7	22.2	23.4	23.2	22.5	31.9
<i>SoGSTe8</i>							—	15.5	14.5	16.1	16.3	27.6	30.4
<i>SoGSTs1</i>								—	48.3	44.7	52.5	18.3	17.1
<i>SoGSTs3</i>									—	67.8	68.3	16.9	15.2
<i>SoGSTs4</i>										—	70.3	16.3	21.7
<i>SoGSTs5</i>											—	16.3	16.1
<i>SoGSTt1</i>												—	22.2
<i>SoGSTt2</i>													—

2.2 米象 GSTs 基因表达模式 磷化氢对米象 13 个 GSTs 基因诱导作用的剂量和时间效应的表达模式见图 1。由图 1 可知,*SoGSTd1*、*SoGSTe1* 和 *SoGSTe5* 基因经不同浓度(LC₃₀、LC₃₀、LC₁₀)磷化氢熏蒸 24 h 后的相对表达量均无显著性差异;*SoGSTe2*、*SoGSTt1* 基因经 LC₃₀浓度的磷化氢熏蒸 24 h 后的相对表达量显著高于其他 2 个浓度;4 个 GSTs 基因(*SoGSTe3*、*SoGSTe4*、*SoGSTs1* 和 *SoGSTs2*)经 LC₃₀浓度的磷化氢熏蒸 24 h 后的相对表达量显著高于对照组和 LC₃₀、LC₁₀处理组;*SoGSTe6*、*SoGSTs3*、*SoGSTt2* 基因无论经任何浓度的磷化

氢熏蒸 24 h 后的相对表达量均显著低于对照组。
8 个 GSTs 基因(*SoGSTd1*、*SoGSTe2*、*SoGSTe3*、*SoGSTe4*、*SoGSTe5*、*SoGSTs1*、*SoGSTs4* 和 *SoGSTt2*)随着熏蒸时间的增加,相对表达量逐渐升高,熏蒸 36 h 后相对表达量最高,随后又开始下降;*SoGSTe1* 基因经 LC₃₀的磷化氢熏蒸 48 h 后的相对表达量达到最大值;*SoGSTs2*、*SoGSTt1* 基因经 LC₃₀的磷化氢熏蒸 12 h 后的相对表达量达到最大值,随后其相对表达量开始逐渐降低;而 *SoGSTs3* 基因经不同时间的磷化氢熏蒸后的相对表达量均显著低于对照组(图 1)。

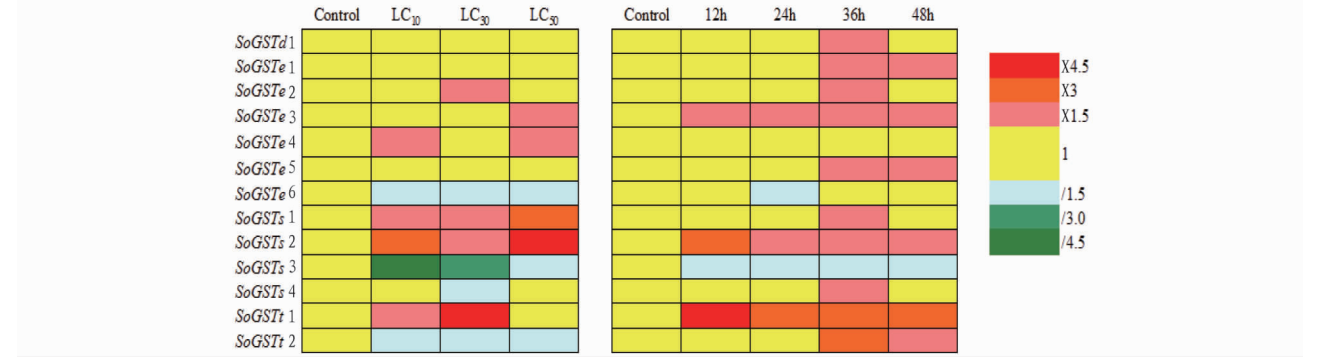


图 1 磷化氢对米象 13 个 GSTs 基因诱导作用的剂量和时间效应

Fig.1 Dose and time effects of phosphine on the induction of 13 GSTs genes in *Sitophilus oryzae*

米象 13 个 GSTs 基因在不同发育阶段的相对表达模式如图 2 所示。米象 *SoGSTd1* 基因在四龄幼虫阶段的相对表达量最高,其次是蛹期,接着是三龄幼虫期,而在成虫期、二龄和一龄幼虫期的相对表达量最低;米象 Epsilon 家族 GSTs 基因中,*SoGSTe1* 基因在成虫阶段的相对表达量分别是蛹期的 3.78 倍、四龄幼虫的 1.48 倍、三龄幼虫的 1.99 倍、二龄幼虫的 2.35 倍、一龄幼虫的 3.32 倍;*SoGSTe2* 和 *SoGSTe5* 基因在四龄幼虫阶段的相对表达量最大,其余依次是成虫、三龄、二龄、蛹和一龄幼虫阶段;*SoGSTe6* 基因的相对表达量在三龄

幼虫阶段最大,分别是成虫、蛹、四龄、二龄、一龄的 1.86、13.75、2.37、1.13、35.21 倍;*SoGSTe3* 基因在四龄幼虫阶段的相对表达量最高,而在蛹期的表达量最低。米象 Sigma 家族 GSTs 基因中,*SoGSTs1*、*SoGSTs2* 和 *SoGSTs4* 基因均在成虫阶段的相对表达量高于其他 5 个发育阶段;*SoGSTs3* 基因在四龄幼虫的相对表达量最高,而在蛹期的表达量最低。*SoGSTt1* 基因在蛹期和四龄幼虫阶段的相对表达量高于其他 4 个发育阶段;*SoGSTt2* 基因在成虫和蛹期的相对表达量高于其他 4 个发育阶段。

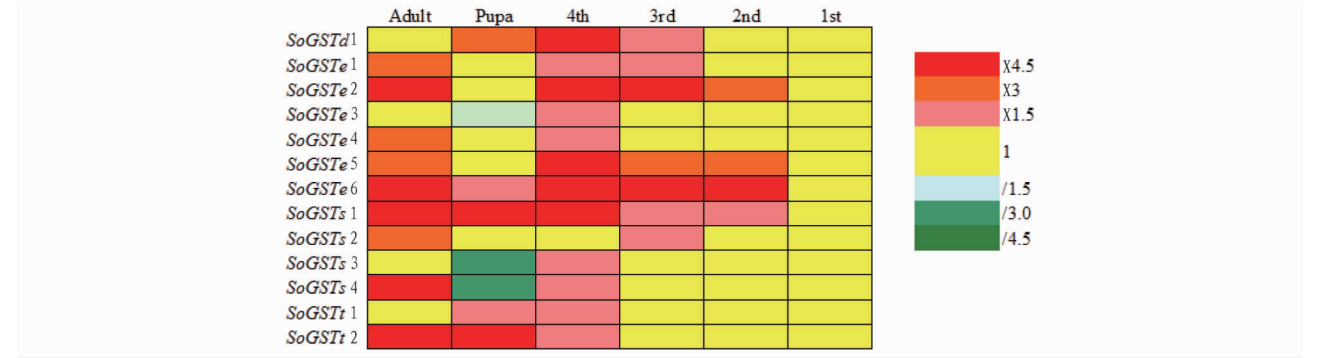


图 2 米象 13 个 GSTs 基因在不同发育阶段的相对表达模式

Fig.2 Relative expression patterns of 13 GSTs genes at different development stages of *Sitophilus oryzae*

米象 13 个 GSTs 基因在不同组织部位的相对表达模式如图 3 所示。米象 13 个 GSTs 基因中的 11 个 (*SoGSTd1*、*SoGSTe1*、*SoGSTe2*、*SoGSTe3*、*SoGSTe4*、*SoGSTe5*、*SoGSTe6*、*SoGSTs1*、*SoGSTs2*、*SoGSTs3*、*SoGSTs4*) 在中肠、脂肪体或马氏管中的相

对表达量均显著高于头部和表皮中的表达量;*SoGSTe6*、*SoGSTs2* 和 *SoGSTt2* 基因在表皮中的相对表达量最低;仅 *SoGSTt1* 基因在米象 5 种组织部位中的相对表达量均无显著性差异。

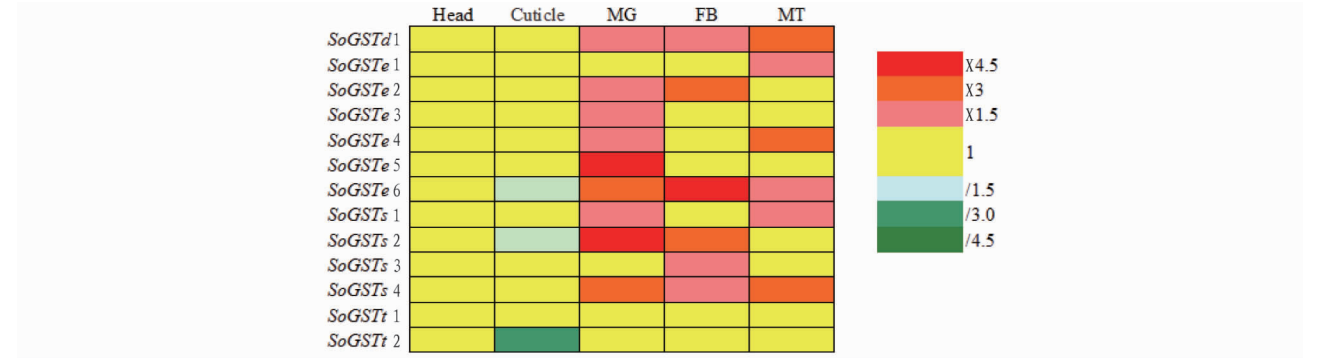


图 3 米象 13 个 GSTs 基因在不同组织部位的相对表达模式

Fig.3 Relative expression patterns of 13 GSTs genes in different tissues of *Sitophilus oryzae*

3 结论与讨论

克隆获得米象 GSTs 基因全长序列 13 个。根据序列的相似性和进化关系,将其中的 6 个基因归类于 Epsilon 家族,4 个基因归类于 Sigma 家族,2 个基因归类于 Theta 家族,另归类于 Delta 家族 1 个。米象 GSTs 基因中共鉴定出 6 个 Epsilon 家族的基因。米象 GSTs 基因中没有鉴定出 Omega、Zeta 和 Unclassified 家族的基因。

米象敏感品系经磷化氢不同浓度熏蒸和不同时间熏蒸处理。3 个 GST 基因经不同浓度的磷化氢熏蒸后的相对表达量均无显著性差异;2 个基因经 LC_{30} 浓度磷化氢熏蒸的相对表达量显著高于其他 2 个浓度;4 个 GSTs 基因经 LC_{50} 浓度的磷化氢熏蒸的相对表达量显著高于对照组和 LC_{30} 、 LC_{10} 处理组;3 个基因相对表达量均显著低于对照组。GSTs 从总体上来看,表达量受熏蒸时间和剂量的影响,且与时间、剂量呈正相关。总体来说,随着米象生长发育,GSTs 表达量逐渐增加。

在不同组织部位上,中肠、脂肪体或马氏管中的相对表达量均显著高于头部和表皮中的表达量。7 个 GSTs 基因随着熏蒸时间的增加,相对表达量逐渐升高;1 个 GSTs 基因的相对表达量均显著低于对照组。米象 13 个 GSTs 基因在不同组织部位的相对表达模式中。米象 GST 基因成虫阶段的相对表达量最高,在四龄幼虫的相对表达量其次。米象 11 个 GSTs 基因在中肠、脂肪体或马氏管中的相对表达量均显著高于头部和表皮中的表达量。

通过对米象 GST 基因的分析,不仅发现了米象进化中的亲缘关系,而且揭示了米象相关的抗药性基因的分子机理,对抗性昆虫产生的原理做出进一步阐释,为新药物的开发提供了指导。同时,扩充了米象的遗传信息资源,为以后米象转录组的研究打下基础。该研究选取米象中的 GST 基因进行系统分析,可以假设,建立抗性基因数据库,一方面可以研究昆虫的种间关系,另一方面,对综合治理昆虫抗药性以及维持生态平衡都有积极的意义。

参考文献

- [1] 刘畅,胡飞,鲁玉杰,等.磷化氢熏蒸对米象抗性相关基因表达的影响[J].安徽农业科学,2013,41(15):6881-6883.
- [2] 唐培安,邓永学,王进军.甲酸乙酯对米象乙酰胆碱酯酶和羧酸酯酶的影响[J].植物保护,2007,33(1):44-47.

- [3] 谢尊逸,贾宝琦,何凤琴.米象对磷化氢抗性机理的初步研究[J].粮食储藏,1986,14(4):1-7.
- [4] 梁权.迎接害虫磷化氢抗性的挑战[J].粮食储藏,1994,23(1):3-7.
- [5] 李雁声,李文质,黎万武,等.谷蠹和米象对磷化氢抗性遗传的研究[J].昆虫学报,1994,37(3):271-279.
- [6] RAJENDRAN S. Insect resistance to phosphine: Challenges and strategies [J]. International pest control, 2001, 43(3): 118-123.
- [7] GEORGHIOU G P, TAYLOR C E. Operational influences in the evolution of insecticide resistance [J]. J Econ Ent, 1977, 70(5): 653-658.
- [8] 严晓平,黎万武,刘作伟,等.我国主要储粮害虫抗性调查研究[J].粮食储藏,2004,32(4):17-19.
- [9] 曹阳.我国储粮害虫玉米象和米象磷化氢抗性调查[J].河南工业大学学报(自然科学版),2005,26(5):1-5.
- [10] SCOTT J G. Cytochrome P450 monooxygenases and insecticide resistance: Lessons from *CYP6D1* [M]// ISHAAYA I. Biochemical sites of insecticide action and resistance. New York: Springer, 2001: 255-259.
- [11] ORTELLI F, ROSSITER L C, VONTAS J, et al. Heterologous expression of four glutathione transferase genes genetically linked to a major insecticide-resistance locus from the malaria vector *Anopheles gambiae* [J]. Biochemical journal, 2003, 373(Pt 3): 957-963.
- [12] 冯雪,王彬,孙艳香.谷胱甘肽S-转氨酶的研究进展[J].生物学教学,2012,37(6):5-6.
- [13] FENG Q L, DAVEY K G, PANG A S D, et al. Glutathione S-transferase from the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana*: Identification, characterization, localization, cDNA cloning, and expression [J]. Insect biochemistry & molecular biology, 1999, 29(9): 779-793.
- [14] FENG Q L, DAVEY K G, PANG A S D, et al. Developmental expression and stress induction of glutathione S-transferase in the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* [J]. Journal of insect physiology, 2001, 47(1): 1-10.
- [15] SHEEHAN D, MEADE G, FOLEY V M, et al. Structure, function and evolution of glutathione transferases: Implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily [J]. Biochem J, 2001, 360(Pt 1): 1-16.
- [16] VONTAS J G, SMALL G J, HEMINGWAY J. Glutathione S-transferases as antioxidant defence agents confer pyrethroid resistance in *Nilaparvata lugens* [J]. Biochemical journal, 2001, 357(Pt 1): 65-72.
- [17] 余泉友,房守敏,左伟东.家蚕谷胱甘肽-S-转氨酶基因 *BmGSTz1* 的克隆、序列分析及组织表达特征[J].昆虫学报,2010,53(10):1061-1068.
- [18] RANSON H, ROSSITER L, ORTELLI F, et al. Identification of a novel class of insect glutathione S-transferases involved in resistance to DDT in the malaria vector *Anopheles gambiae* [J]. Biochemical journal, 2001, 359(Pt 2): 295-301.
- [19] BOARD P G, BAKER R T, CHELVANAYAGAM G, et al. Zeta, a novel class of glutathione transferases in a range of species from plants to humans [J]. Biochemical journal, 1997, 328: 929-935.
- [20] 左伟东,余泉友,李斌,等.家蚕谷胱甘肽S-转氨酶基因的克隆、序列分析及其表达模式[J].农业生物技术学报,2007,15(4):595-601.
- [21] DING Y C, ORTELLI F, ROSSITER L C, et al. The *Anopheles gambiae* glutathione transferase supergene family: Annotation, phylogeny and expression profiles [J]. BMC Genomics, 2003, 4(1): 35-36.
- [22] 陈凤菊,高希武.昆虫谷胱甘肽S-转氨酶的基因结构及其表达调控[J].昆虫学报,2005,48(4):600-608.