

· 植物保护 ·

DOI: 10.15886/j.cnki.rdswwb.20230009



主持人: 缪卫国

## 斑翅果蝇解毒代谢相关基因的鉴定与分析

王正磊<sup>1,2</sup>, 刘凯扬<sup>2</sup>, 袁琳琳<sup>2</sup>, 李芬<sup>1,2</sup>, 吴少英<sup>1,2</sup>

(1. 海南大学 三亚南繁研究院, 海南 三亚, 572025; 2. 海南大学 植物保护学院, 海口, 570228)

**摘要:** 根据斑翅果蝇(*Drosophila suzukii* Matsumura)的转录组数据,通过序列分析、进化分析、结构域及保守氨基酸分析,鉴定出5种斑翅果蝇的解毒代谢基因,包括ABC转运蛋白(ATP-binding cassette transporter, ABCs)、细胞色素P450单加氧酶(cytochrome P450, CYPs)、谷胱甘肽-S-转移酶(glutathione S-transferases, GSTs)、羧酸酯酶(carboxylesterases, CarEs)、尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶(UDP-glucuronosyl transferases, UGTs)。进化分析结果显示,斑翅果蝇的CYPs基因分布于CYP3、CYP4、CYP6、CYP9四个进化分支,ABCs基因分布于ABCC、ABCD、ABCF、ABCG四个亚家族,GSTs基因分布于GST-Delta、GST-Epsilon、GST-Theta以及GST-Zeta四个进化分支,斑翅果蝇的CarEs基因和UGTs基因与亚艳丽果蝇(*Drosophila subpulchrella*)的遗传距离最近;结构域及保守氨基酸分析结果表明所有的CYPs均包含P450结构域;ABCs中都包含ABC2结构域;在GSTs中都含有GST结构域;在CarEs中包含Coesterases结构域;在UGTs中含有UDPGT结构域。CYPs的保守基序为EEGGKRNDFLDLLJZLKKEG,ABCs的保守基序为DCPSASNPADYIIE,GSTs的保守基序为LYPKDLVKRAVVDQRLHFE。

**关键词:** 斑翅果蝇; 代谢解毒基因; 进化分析; 蛋白结构域; 氨基酸残基

**中图分类号:** Q966 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-7054(2023)06-0660-08

王正磊, 刘凯扬, 袁琳琳, 等. 斑翅果蝇解毒代谢相关基因的鉴定与分析[J]. 热带生物学报, 2023, 14(6): 660-667. doi: 10.15886/j.cnki.rdswwb.20230009

斑翅果蝇(*Drosophila suzukii* Matsumura)别名铃木氏果蝇,隶属双翅目(Diptera),环列亚目(Cyclorhapha),果蝇科(Drosophilidae)果蝇属(*Drosophila*),是主要的水果果实害虫。斑翅果蝇传播范围广、速度快,自1916年在日本山梨县首次发现后迅速蔓延,已严重危害了美国、日本、俄罗斯等30多个国家的樱桃、蓝莓等水果产业,并被多个国家列为重要的检疫性害虫<sup>[1-3]</sup>。现如今我国大部分水果产区,广西、广东、云南、台湾等省均有危害记载,山东、辽宁、黑龙江等北方省份也相继报道过斑翅果蝇的危害情况<sup>[4-7]</sup>。斑翅果蝇寄主广泛,危害严重,危害对象包括樱桃、葡萄、柿子、杨梅、蓝莓等18科60多种水果<sup>[5,8]</sup>。斑翅

果蝇不同于其他果蝇,除取食落地果和受损果实外,其雌性成虫坚硬的锯齿状产卵器,能将成熟皮软的果实表皮刺破,在其内产卵,幼虫取食危害,造成严重的经济损失<sup>[5]</sup>。我国出口澳大利亚的油桃、葡萄等水果曾因为有可能携带斑翅果蝇而被要求实施检疫处理<sup>[9]</sup>。

由于斑翅果蝇具有传播广、繁殖快、危害严重等特点,目前对于防治斑翅果蝇最直接有效的手段还是化学防治<sup>[10]</sup>。而长期过量使用化学农药会导致昆虫对某些杀虫剂的敏感性明显降低而产生抗药性<sup>[11]</sup>。最新研究发现,在实验室药剂汰选下,斑翅果蝇可以在短时间内对氯氰菊酯、马拉硫磷和多杀菌素产生抗性<sup>[12-13]</sup>。昆虫产生抗药性的主

收稿日期: 2023-02-04 修回日期: 2023-03-10

基金项目: 国家自然科学基金(31960539); 国家重点研发计划项目(2021YFC2600600); 海南省重大科技计划项目(ZDKJ2021016)

第一作者: 王正磊(1999-),男,海南大学植物保护学院2020级硕士研究生.研究方向: 农业昆虫与害虫防治. E-mail: wangzhenglei15815@163.com

通信作者: 吴少英(1980-),女,博士,教授.研究方向: 昆虫毒理与生理生化方向. E-mail: wswsy6000@hainanu.edu.cn

要机制之一是其体内的代谢解毒酶的活性显著增高,将杀虫剂转化为极易溶于水的极性分子,通过一系列氧化还原作用、水解作用、轭合作用和基因转移作用,将其排出体外,从而增强对杀虫剂的解毒能力,这种机制称为代谢抗性<sup>[14]</sup>。参与代谢反应的解毒酶通常被分为 5 类: ABC 转运蛋白(ATP-binding cassette transporter, ABCs)、细胞色素 P450 单加氧酶(cytochrome P450, CYPs)、谷胱甘肽-S-转移酶(glutathione S-transferases, GSTs)、羧酸酯酶(carboxylesterases, CarEs)、尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶(UDP-glucuronosyl transferases, UGTs)。昆虫的解毒代谢过程分为 3 个阶段: ① 细胞色素 P450 单加氧酶(cytochrome P450, CYPs)参与第一阶段<sup>[15]</sup>。细胞色素 P450 酶系广泛分布于生物体内,主要由细胞色素 P450、细胞色素 b5、黄素蛋白-NADPH-P-450 还原酶、黄素蛋白-NADH-细胞色素 b5 还原酶以及磷脂组成,是参与外源和内源化合物合成和分解的一种重要代谢酶系,CYPs 氧化代谢活性的增强是昆虫对拟除虫菊酯类杀虫剂产生抗性的重要机制<sup>[16]</sup>。也有研究表明冈比亚按蚊对氯菊酯的抗性增强与其体内的 *CYP6P3* 基因表达过量有关<sup>[17]</sup>。② 3 类解毒酶参与代谢解毒过程的第二阶段<sup>[18]</sup>,谷胱甘肽-S-转移酶属于多功能的超家族解毒酶系,通常认为昆虫通过 GSTs 的共轭结合、脱氯化氢、螯合以及提高细胞的抗氧化活性等一系列作用来代谢外源有毒物质,从而产生抗性<sup>[19]</sup>。羧酸酯酶作为一种重要的解毒酶,存在于昆虫头部、中肠、马氏管等组织中,它对外源生物分子的高亲和性和解毒作用是昆虫对有机磷类和氨基甲酸酯类杀虫剂产生抗性的重要原因<sup>[20]</sup>。尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶是一类广泛存在于动物、植物、细菌以及病毒内的多功能超家族酶系<sup>[21]</sup>,参与动物、植物、细菌和病毒等生物体内各种化合物的解毒作用,可以将核糖核苷酸中的糖基团催化形成亲水性化合物并有效排出体外<sup>[22]</sup>。③ 第三阶段由 ABC 转运蛋白(ATP-binding cassette transporter, ABCs)参与代谢解毒过程。ABC 转运蛋白能够直接将极性化合物或复合物以及其他外源有毒物质泵出细胞外,而不需要经过其他酶的修饰,从而起到排毒和保护昆虫的作用<sup>[23]</sup>。家蚕体内 ABC 转运蛋白的表达上调可以降低其对杀虫剂的敏感性<sup>[24]</sup>。

通过分析基因进化关系以及蛋白保守结构域

可以鉴定基因的类别、解析基因的功能,随着全基因组测序技术的不断进步和发展,以及大量昆虫全基因组测序的完成,此类研究日益增多。梅洋、Yang 等分别通过草地贪夜蛾 sf9 细胞系的基因组数据和脑转录组数据,鉴定并注释了草地贪夜蛾的解毒酶相关基因家族<sup>[25-26]</sup>;基于基因组和转录组数据,尹传林等解析了二化螟的抗药性相关基因以及寄生蜂细胞色素 P450 的基因家族<sup>[27-28]</sup>。同时此类研究也被应用于昆虫化学感受相关基因和表皮蛋白基因等方面<sup>[29-30]</sup>。但在斑翅果蝇中还未有对其解毒代谢相关基因的鉴定与分析,本研究拟从 NCBI 中获得斑翅果蝇的转录组数据,对其与代谢解毒相关的 5 个主要基因家族进行分类,并分析它们的保守结构域与氨基酸残基,以期为斑翅果蝇的防治提供新的思路和途径。

## 1 材料与方法

**1.1 基因鉴定及序列分析** 使用 TBtools v1.085 软件从 NCBI 数据库([https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/GCA\\_000472105.1/GCF\\_000472105.1](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/GCA_000472105.1/GCF_000472105.1))下载斑翅果蝇的转录组及参考转录组序列。同时下载获得其他 29 种果蝇的 UGTs 核苷酸序列和 21 种果蝇的 CESs 核苷酸序列。根据黑腹果蝇的基因组注释方法和结果将斑翅果蝇的解毒基因归类为 CYPs、CarEs、GSTs、ABCs 和 UGTs 五个家族<sup>[31]</sup>。在斑翅果蝇转录组数据中搜索得到 CYPs、CarEs、GSTs、ABCs 和 UGTs 的核苷酸序列,通过 NCBI 核苷酸数据库中的同源性 blast 功能进行人工验证,将筛选标准设定为  $e \leq 1e^{-5}$ ,识别百分比  $\geq 50\%$ <sup>[32]</sup>。采用 NCBI Open Reading Frame Finder 预测 5 种解毒代谢相关基因的开放阅读框(ORF)(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>),选出具有完整开放阅读框的基因,使用 EditSeq 软件将已鉴定的基因翻译成氨基酸序列。

**1.2 进化发育与同源性分析** 将最终确定的 CYPs、ABCs、GSTs、CarEs、UGTs 氨基酸序列通过 MEGA7.0 软件中的 ClustW 进行多序列比对<sup>[33]</sup>,将比对后的文件转化为 meg 格式,基于最大似然法,本研究使用 Mega-X 软件构建具有 1 000 个 bootstrap 值的系统进化树,并通过 iTOL 工具(<https://itol.embl.de/itol.cgi>)进一步润色和美化(CarEs 和 UGTs 由于数据太少,将其与其他果蝇的同源基因进行比对)。

### 1.3 蛋白结构域分析及保守氨基酸残基分析

将具有完整开放阅读框的基因使用模块化结构研究工具 SMART(<http://smart.embl.de/>)用于预测 5 种解毒代谢基因的保守结构域<sup>[34]</sup>, 并将 CYPs、ABCs、GSTs 的氨基酸序列分别上传至在线工具 MEME(<https://meme-suite.org/meme/>), 分析此 3 种斑翅果蝇解毒代谢基因中保守的氨基酸残基<sup>[35]</sup>。

## 2 结果与分析

**2.1 基因鉴定与序列分析** 经过序列比对分析, 从斑翅果蝇转录组数据中鉴定出 58 条具有完整开放阅读框的 P450s 序列, 平均长度为 1 847 bp, 编码 428 ~ 595 个氨基酸; 28 条编码 GSTs 的核苷酸序列, 平均长度为 1 005 bp, 编码 209 ~ 557 个氨基酸; 26 条编码 ABCs 的核苷酸序列, 平均长度为 3 034 bp, 编码 604 ~ 2 201 个氨基酸。从 NCBI 中

下载的 29 种果蝇的具有完整开放阅读框的 UGTs 核苷酸序列平均长度为 1 578 bp, 编码 497 ~ 540 个氨基酸; 21 种果蝇的 CarEs 核苷酸序列平均长度为 1 999 bp, 编码 602 ~ 681 个氨基酸。

**2.2 进化发育与同源性分析** 基于 CYPs、GSTs、ABCs 的保守区域, 本研究利用这些氨基酸序列分别构建了系统发育树(图 1-a、图 1-b、图 1-c)。结果显示 58 个 CYPs 基因分布于 *CYP3*、*CYP4*、*CYP6*、*CYP9* 四个进化分支, 其中包含 19 条序列的 *CYP4* 家族构成了发育树的最大分支, 而 *CYP9* 分支最小, 只有 4 条序列; 而 ABCs 基因系统发育树由 4 个分支组成, 其中 *ABC-G* 构成的分支最为庞大, 包含 14 条序列; 28 个 GSTs 基因分布于 *GST-Delta*、*GST-Epsilon*、*GST-Theta* 以及 *GST-Omega* 四个进化分支, 分别为其中最大的进化分支为 *GST-Delta*。由于数据库中的 CarEs 和

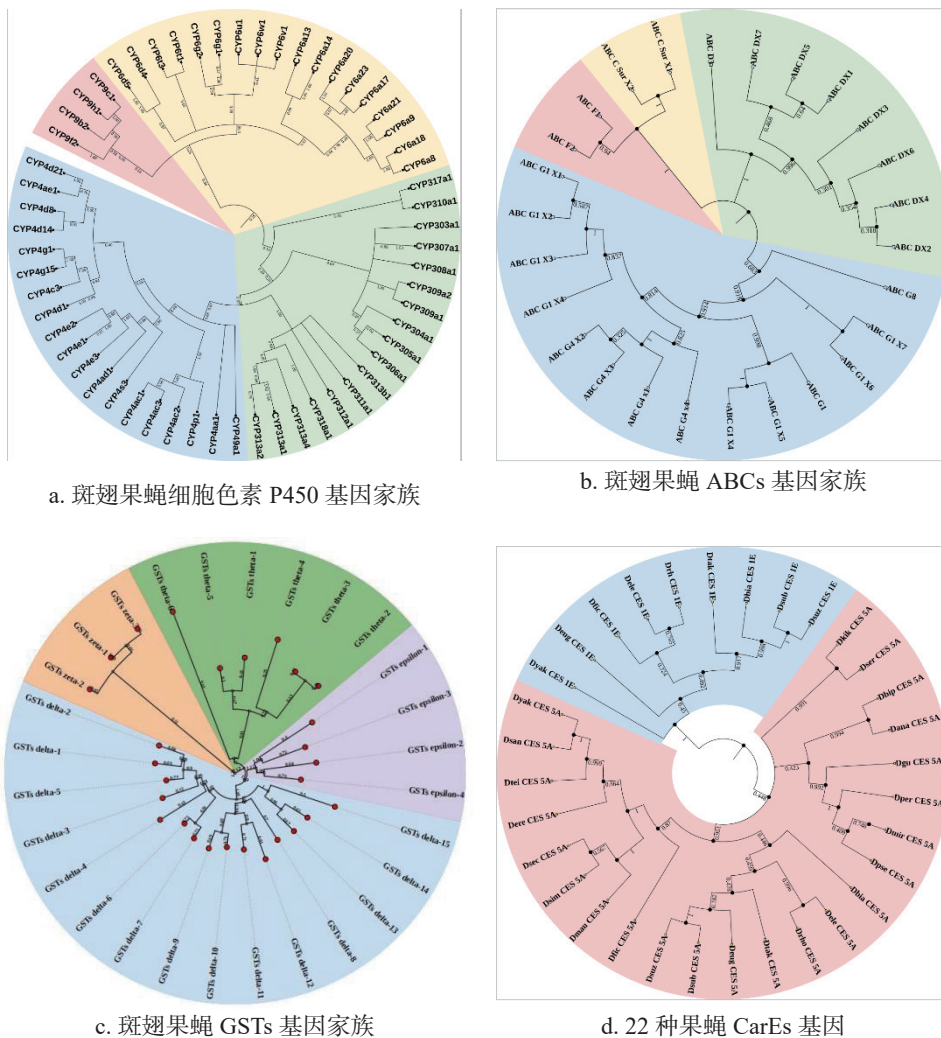


图 1 斑翅果蝇代谢解毒基因系统发育树

UGTs 基因太少,本研究用斑翅果蝇的 CES 基因与其他 21 种果蝇的 CESs 氨基酸序列构建系统发育树,结果显示果蝇的 CarEs 基因分为 *CES-1E* 和 *CES-5A* 两个进化枝,其中斑翅果蝇与亚艳丽果蝇 (*Drosophila subpulchrella*) 同源性最高(图 1-d)。同时,本研究将斑翅果蝇的 UGTs 基因与其他 29 种果蝇的 UGTs 氨基酸序列构建系统发育树,结果显示 30 种果蝇的 UGTs 基因被分为 3 个进化枝,在同一个进化枝中斑翅果蝇和亚艳丽果蝇 (*D. subpulchrella*) 的遗传距离最近(图 2)。

### 2.3 蛋白结构域分析及保守氨基酸残基分析

通过 SMART 工具,本研究分析了斑翅果蝇的 CYPs、CarEs、GSTs、ABCs 和 UGTs 五种解毒酶基因的蛋白结构域。分析结果显示在 CYPs 中除了信号肽(signal peptide)和细胞色素 P450 蛋白的保守区域以外,还包含 FAD 结合域(FAD-binding)、NAD 结合域(NAD-binding)、以及起电子传递作用的黄素氧还蛋白(flavodoxin)。在 ABCs 中除了

包含 ABC 转运蛋白保守区域的 ATP 结合盒(ABC-membrane)外还包括核糖核酸内切酶 RNase L 抑制蛋白 N-末端的 RLI 结构域以及在多种代谢反应中介导电子转移的 4Fe-4S 的铁氧化还原蛋白(Fer4)。在 GSTs 中包括谷胱甘肽-S-转移酶的 N-末端结构域、C-末端结构域以及类花生酸和谷胱甘肽代谢中的膜相关蛋白 MAPEG(Membrane Associated Proteins in Eicosanoid and Glutathione metabolism)。在 CarEs 和 UGTs 中只发现了信号肽和它们各自的保守区域: 羧酸酯酶-结构域(Coesterases)以及 UDP 糖基转移酶蛋白(UDPGT)(图 3)。此外,根据在线工具 MEME 的分析结果本研究分别在斑翅果蝇的 CYPs 中鉴定出几个高度保守的氨基酸残基 EEGGKKRNDFLDLLJZLK-KEG(图 4-a); 在 ABCs 中鉴定出的保守氨基酸残基为 DCPSASNPADYII(图 4-b); 在 GSTs 中鉴定出的保守氨基酸残基为 LYPKDLVKRAVVDQ-RLHFE(图 4-c)。

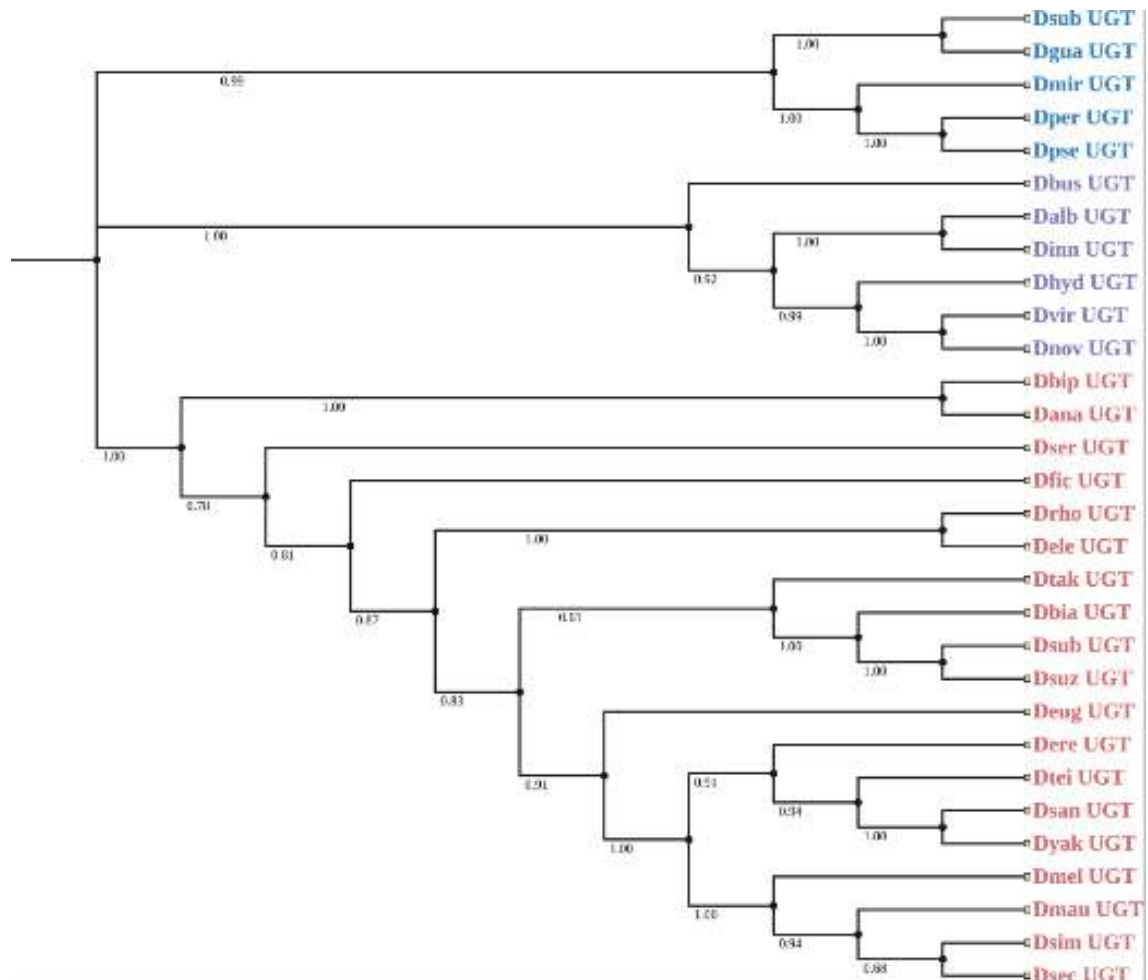


图 2 斑翅果蝇 UGTs 基因系统发育树

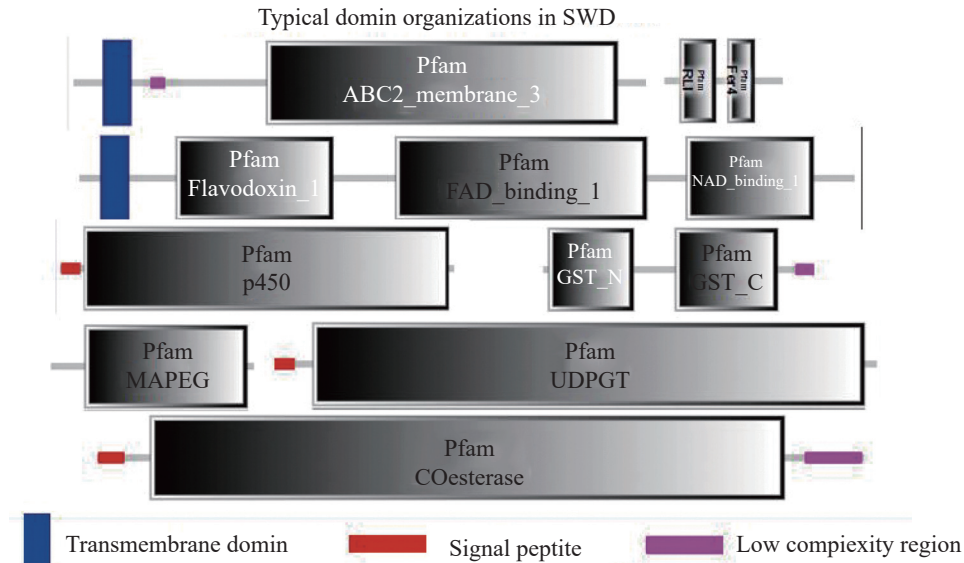


图3 斑翅果蝇5种代谢解毒基因蛋白结构域

ABC2: ATP结合盒; RLI: 核糖核酸内切酶RNase L抑制蛋白; Fer4: 铁氧化还原蛋白; Flavodoxin: 黄素氧还蛋白; FAD-binding: 黄素氧还蛋白; NAD-binding: NAD结合域; P450: 细胞色素P450; GST: 谷胱甘肽-S-转移酶; Coesterase: 羧酸酯酶结构域; MAPGE: 类花生酸和谷胱甘肽代谢中的膜相关蛋白; UDPGT: UDP糖基转移酶蛋白

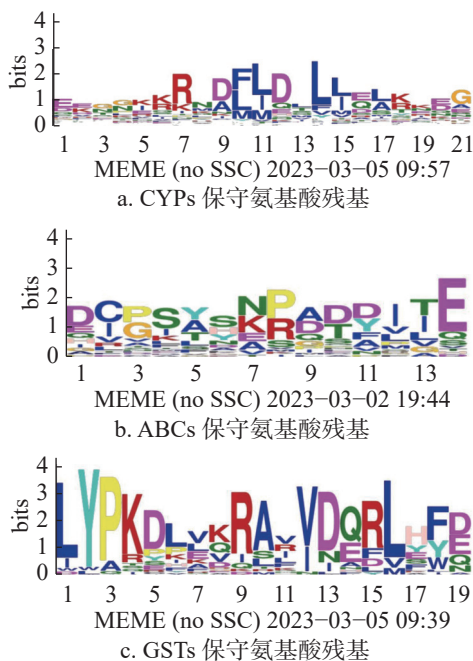


图4 斑翅果蝇CYPs、ABCs、GSTs保守氨基酸残基

### 3 讨论

代谢抗性是近几十年来被广泛研究的昆虫产生抗药性的主要机理之一<sup>[36]</sup>。随着功能基因组技术在昆虫抗药性研究中的应用,一些与解毒代谢相关的基因在昆虫中被鉴定出来,一般情况下,解毒酶基因包括CYPs、ABCs、CarEs、GSTs、UGTs等<sup>[37]</sup>。研究表明昆虫的代谢解毒能力与其寄主范围以及食性有重要关系<sup>[38]</sup>。细胞色素P450

作为昆虫体内最大的解毒酶系之一,已被证明是大多数农业害虫对杀虫剂产生高抗药性以及交互抗性的主要原因<sup>[39]</sup>。在家蚕中鉴定出82个细胞色素P450基因,而在食性更杂的草地贪夜蛾中则鉴定出213个细胞色素P450基因<sup>[40]</sup>。本研究在斑翅果蝇基因组数据中共鉴定出58个包含完整开放阅读框的细胞色素P450基因,其中CYP6家族包含18个基因,而CYP6家族被认为与昆虫抗药性关系最为密切<sup>[39]</sup>。已有研究报道在冈比亚按蚊抗氯菊酯品系中P450s基因CYP6Z1的表达量是敏感品系的11倍;在黑腹果蝇抗DDT品系中发现CYP6G2基因高表达,其表达量是敏感品系的10倍~100倍<sup>[41]</sup>。在本研究中同样发现了CYP6G2基因,因此本研究结果将为探索斑翅果蝇CYPs解毒的分子机制提供重要参考。此外研究发现的几个细胞色素P450基因的保守氨基酸位点可能对其功能起重要作用。抗性昆虫主要通过提高羧酸酯酶的表达量和编码氨基酸发生突变引起结构的变化,导致酶促作用增强两种机制来提高其对杀虫剂的抗药性<sup>[42-43]</sup>。酯酶基因表达量增强导致抗性产生的机制,最早在桃蚜(*Myzus persicae*)中发现,在抗性桃芽品系中酯酶活性明显高于敏感品系<sup>[44]</sup>。酯酶氨基酸突变导致的抗性最早在家蝇(*Musca domestica*)对有机磷的抗药性研究中发现,在6个抗有机磷家蝇品系中均有一个突变酯酶E3<sup>G137D</sup><sup>[45]</sup>。而UDP-葡萄糖醛酸转移酶通过调节

UGTs 的表达量改变昆虫对杀虫剂的抗药性<sup>[46]</sup>。研究表明, 当 UGTs 基因表达量提高时, 马铃薯叶甲对吡虫啉的抗性会随之增强; 而当褐飞虱的 *UGT-1-7* 和 *UGT2B10* 基因被抑制后, 其对吡虫啉的敏感性会增强<sup>[47-48]</sup>。谷胱甘肽 S-转移酶同样是一个多功能的超家族解毒酶系, 可以使昆虫对所有主要类别的杀虫剂产生抗性。第一个昆虫的 GSTs 基因是从黑腹果蝇中克隆而出<sup>[49]</sup>, 在黑腹果蝇基因组中共发现 37 个 GSTs 基因<sup>[19]</sup>。马铃薯甲虫、柑橘全爪螨、禾谷缢管蚜等昆虫中的 GSTs 基因与抗药性的关系也被研究报道<sup>[50-52]</sup>。本研究从斑翅果蝇转录组中发现 28 个 GSTs 基因, 其功能是否与抗药性有关还有待研究。

经典的昆虫代谢抗性研究主要集中在细胞色素 P450、羧酸酯酶以及谷胱甘肽 S-转移酶 3 个家族<sup>[18]</sup>。而随着越来越多的昆虫全基因组测序的完成, 有关 ABC 转运蛋白介导的代谢抗性的研究也日益增多。研究发现在小菜蛾 (*Plutella xylostella*) 中有 100 个 ABC 转运蛋白基因, 与敏感品系相比, *ABCA*, *ABCC*, *ABCG*, *ABCH* 和 *ABCF* 家族的成员在小菜蛾抗毒死蜱品系中相对高表达<sup>[53]</sup>; 在黑腹果蝇中发现了 56 个 ABC 转运蛋白基因, 其中, *ABCB*, *ABCC* 和 *ABCG* 基因家族主参与外源有毒物质的代谢, 与杀虫剂抗性有关<sup>[54]</sup>。本研究在斑翅果蝇中发现了 26 个 ABC 转运蛋白基因, 包括 *ABCC*, *ABCD*, *ABCF*, *ABCG* 四个亚家族, 其中 *ABCG* 亚家族最为庞大, 这一结果将为斑翅果蝇 ABCs 的解毒机制提供重要参考。同时在 ABC 转运蛋白中发现的几个保守氨基酸残基将为开发新农药提供潜在的靶标位点。

## 参考文献:

- [1] 钱远槐, 刘艳玲, 李守涛, 等. 中国黑腹果蝇种组的组成与分布[J]. 湖北大学学报(自然科学版), 2006, 28(4): 397-402.
- [2] 方志鹏, 林石明, 陈红运, 等. 2014 年 EPPO 检疫性有害生物名录的变化[J]. 植物检疫, 2015, 29(4): 92-100.
- [3] CINI A, ANFORA G, ESCUDERO-COLOMAR L A, et al. Tracking the invasion of the alien fruit pest *Drosophila suzukii* in Europe [J]. *Journal of Pest Science*, 2014, 87(4): 559-566.
- [4] 刘庆忠, 王晓芳, 王甲威, 等. 斑翅果蝇在甜樱桃、蓝莓等果树上的发生危害与防治策略[J]. 落叶果树, 2014, 46(6): 1-3.
- [5] LEE J C, DREVES A J, CAVE A M, et al. Infestation of wild and ornamental noncrop fruits by *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) [J]. *Annals of the Entomological Society of America*, 2015, 108(2): 117-129.
- [6] 刘佩旋, 刘成, 徐晓蕊, 等. 一种危险性有害生物: 斑翅果蝇研究现状[J]. 中国植保导刊, 2017, 37(5): 5-11.
- [7] 刘佩旋. 辽宁省部分地区斑翅果蝇发生情况与繁殖力的研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2017.
- [8] 张开春, 闫国华, 郭晓军, 等. 斑翅果蝇 (*Drosophila suzukii*) 研究现状[J]. 果树学报, 2014, 31(4): 717-721.
- [9] 王小雪, 刘波, 李志红, 等. 斑翅果蝇检疫研究进展[J]. 植物检疫, 2019, 33(2): 14-18.
- [10] 郭洁, 张艺馨, 周锐, 等. 几种杀虫剂对斑翅果蝇室内毒力测定[J]. 植物检疫, 2017, 31(1): 51-53.
- [11] DENHOLM I, DEVINE G J, WILLIAMSON M S. Insecticide resistance on the move [J]. *Science*, 2002, 297(5590): 2222-2223.
- [12] DISI J O, SIAL A A. Laboratory selection and assessment of resistance risk in *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) to spinosad and malathion [J]. *Insects*, 2021, 12(9): 794.
- [13] DEANS C, HUTCHISON W D J P M S. Propensity for resistance development in the invasive berry pest, spotted-wing *Drosophila* (*Drosophila suzukii*), under laboratory selection [J]. *Pest Management Science*, 2022, 78: 5203-5212.
- [14] 阮成龙, 米智, 朱勇. 昆虫抗药性机制研究进展[J]. 蚕业科学, 2012, 38(2): 322-328.
- [15] DESPRÉS L, DAVID J P, GALLET C. The evolutionary ecology of insect resistance to plant chemicals [J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2007, 22(6): 298-307.
- [16] GREEN M T, DAWSON J H, GRAY H B. Oxoiron (IV) in chloroperoxidase compound II is basic: implications for P450 chemistry [J]. *Science*, 2004, 304(5677): 1653-1656.
- [17] MÜLLER P, WARR E, STEVENSON B J, et al. Field-caught permethrin-resistant *Anopheles gambiae* overexpress CYP6P3, a P450 that metabolises pyrethroids [J]. *PLoS Genetics*, 2008, 4(11): e1000286.
- [18] LI X, SCHULER M A, BERENBAUM M R. Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics [J]. *Annual Review of Entomology*, 2007, 52: 231-253.
- [19] 尤燕春, 谢苗, 尤民生. 昆虫谷胱甘肽 S-转移酶的多源性及其介导的抗药性[J]. 应用昆虫学报, 2013, 50(3): 831-840.
- [20] 常海静. 转尖音库蚊羧酸酯酶及其突变基因果蝇的杀虫剂抗性研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2011.
- [21] BURCHELL B, COUGHTRIE M W H. UDP-glucuronosyltransferases [J]. *Pharmacology & Therapeutics*, 1989, 43(2): 261-289.
- [22] KOJIMA W, FUJII T, SUWA M, et al. Physiological

- adaptation of the Asian corn borer *Ostrinia furnacalis* to chemical defenses of its host plant, maize [J]. *Journal of Insect Physiology*, 2010, 56(9): 1349 – 1355.
- [23] DERMAUW W, VAN LEEUWEN T. The ABC gene family in arthropods: comparative genomics and role in insecticide transport and resistance [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2014, 45: 89 – 110.
- [24] LABBÉ R, CAVENEY S, DONLY C. Genetic analysis of the xenobiotic resistance-associated ABC gene subfamilies of the Lepidoptera [J]. *Insect Molecular Biology*, 2011, 20(2): 243 – 256.
- [25] 梅洋, 杨义, 叶昕海, 等. 草地贪夜蛾解毒代谢相关基因家族的进化分析[J]. *环境昆虫学报*, 2019, 41(4): 727 – 735.
- [26] YANG L, XING B, LI F, et al. Full-length transcriptome analysis of *Spodoptera frugiperda* larval brain reveals detoxification genes [J]. *PeerJ*, 2021, 9: e12069.
- [27] 尹传林. 二化螟抗药性相关基因家族分析及数据库的构建[D]. 南京: 南京农业大学, 2016.
- [28] 尹传林, 叶昕海, 陈梦瑶, 等. 寄生蜂细胞色素 P450 基因家族进化分析[J]. *中国生物防治学报*, 2019, 35(3): 335-342.
- [29] 刘莹, 肖花美, 梅洋, 等. 草地贪夜蛾化学感受相关基因家族的进化分析[J]. *环境昆虫学报*, 2019, 41(4): 718 – 726.
- [30] 李根层, 赵昱杰, 赵宁, 等. 基于转录组学的管纹艳虎天牛表皮蛋白基因家族的鉴定及特征分析 [J]. *环境昆虫学报*, 2021, 43(1): 1-14.
- [31] ATTRILL H, FALLS K, GOODMAN J L, et al. Fly-Base: establishing a Gene Group resource for *Drosophila melanogaster* [J]. *Nucleic Acids Research*, 2016, 44(D1): D786 – D792.
- [32] CHEN C, CHEN H, ZHANG Y, et al. TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data [J]. *Molecular Plant*, 2020, 13(8): 1194 – 1202.
- [33] KUMAR S, STECHER G, LI M, et al. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2018, 35(6): 1547 – 1549.
- [34] LETUNIC I, BORK P. 20 years of the SMART protein domain annotation resource [J]. *Nucleic Acids Research*, 2018, 46(D1): D493 – D496.
- [35] BAILEY T L, JOHNSON J, GRANT C E, et al. The MEME suite [J]. *Nucleic Acids Research*, 2015, 43(W1): W39 – W49.
- [36] PANINI M, MANICARDI G, MOORES G, et al. An overview of the main pathways of metabolic resistance in insects [J]. *Invertebrate Survival Journal*, 2016, 13(1): 326 – 335.
- [37] GEORGIOU G P. Pest resistance to pesticides [M]. New York: Springer Science & Business Media, 2012.
- [38] RAMSEY J S, RIDER D S, WALSH T K, et al. Comparative analysis of detoxification enzymes in *Acyrtosiphon pisum* and *Myzus persicae* [J]. *Insect Molecular Biology*, 2010, 19(S2): 155 – 164.
- [39] 郭亭亭, 姜辉, 高希武. 昆虫细胞色素 P450 基因的多样性、进化及表达调控[J]. *昆虫学报*, 2009, 52(3): 301 – 311.
- [40] 朱克森, 黄钧鸿, 冯启理, 等. 草地贪夜蛾与斜纹夜蛾解毒相关基因的比较分析[J]. *环境昆虫学报*, 2020, 42(2): 318 – 328.
- [41] DABORN P, BOUNDY S, YEN J, et al. DDT resistance in *Drosophila* correlates with Cyp6g1 over-expression and confers cross-resistance to the neonicotinoid imidacloprid [J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2001, 266(4): 556 – 563.
- [42] CAMPBELL P M, NEWCOMB R D, RUSSELL R J, et al. Two different amino acid substitutions in the esterase, E3, confer alternative types of organophosphorus insecticide resistance in the sheep blowfly, *Lucilia cuprina* [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 1998, 28(3): 139 – 150.
- [43] CLAUDIANOS C, RUSSELL R J, OAKESHOTT J G. The same amino acid substitution in orthologous esterases confers organophosphate resistance on the house fly and a blowfly [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 1999, 29(8): 675 – 686.
- [44] DEVONSHIRE A L, SAWICKI R M. Insecticide-resistant *Myzus persicae* as an example of evolution by gene duplication [J]. *Nature*, 1979, 280(5718): 140 – 141.
- [45] OPPENOORTH F J, VAN ASPEREN K. Allelic genes in the housefly producing modified enzymes that cause organophosphate resistance [J]. *Science*, 1960, 132(3422): 298 – 299.
- [46] BULL D L, WHITTEN C J. Factors influencing organophosphorus insecticide resistance in tobacco budworms [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1972, 20(3): 561 – 564.
- [47] KAPLANOGLU E, CHAPMAN P, SCOTT I M, et al. Overexpression of a cytochrome P450 and a UDP-glycosyltransferase is associated with imidacloprid resistance in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 1762.
- [48] CHENG Y, LI Y, LI W, et al. Inhibition of hepatocyte nuclear factor 4 confers imidacloprid resistance in *Nilaparvata lugens* via the activation of cytochrome P450 and UDP-glycosyltransferase genes [J]. *Chemosphere*, 2021, 263: 128269.
- [49] TOUNG Y P, HSIEH T S, TU C P. *Drosophila* glutathione S-transferase 1-1 shares a region of sequence homology with the maize glutathione S-transferase III [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1990, 87(1): 31 – 35.
- [50] 韩金波. 马铃薯甲虫谷胱甘肽转移酶家族基因的鉴定及其对三种杀虫剂的响应[D]. 南京: 南京农业大学,

- 2016.
- [51] 廖重宇. 柑橘全爪螨谷胱甘肽 S-转移酶解毒代谢功能研究[D]. 重庆: 西南大学, 2016.
- [52] BALAKRISHNAN B. 禾谷缢管蚜谷胱甘肽转移酶分子克隆和功能表达研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2018.
- [53] YOU M, YUE Z, HE W, et al. A heterozygous moth genome provides insights into herbivory and detoxification [J]. *Nature Genetics*, 2013, 45(2): 220 – 225.
- [54] DEAN M, HAMON Y, CHIMINI G. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily [J]. *Journal of Lipid Research*, 2001, 42(7): 1007 – 1017.

## Identification and analysis of detoxification genes in *Drosophila suzukii* Matsumura

WANG Zhenglei<sup>1,2</sup>, LIU Kaiyang<sup>2</sup>, YUAN Linlin<sup>2</sup>, LI Fen<sup>1,2</sup>, WU Shaoying<sup>1,2</sup>

(1. Sanya Nanfan Research Institute, Hainan University, Haikou, Hainan 572025, China;

2. School of Plant Protection, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China)

**Abstract:** *Drosophila suzukii* Matsumura is a worldwide fruit pest. Based on the transcriptome of *D. suzukii*, five metabolic detoxification genes were identified by using sequence analysis, phylogenetic analysis, structural domain analysis and conserved motif analyses. These five genes include ATP-binding cassette transporter (ABCs), cytochrome P450 (CYPs), glutathione S-transferases (GSTs), carboxylesterases (CarEs) and UDP-glucuronosyl-transferases (UGTs). Phylogenetic analysis showed that CYPs genes were classified into four clans, *CYP3*, *CYP4*, *CYP6* and *CYP9*, while ABCs genes fell into four clans, *ABCC*, *ABCD*, *ABCF* and *ABCG*. GSTs genes were classified into *GST-Delta*, *GST-Epsilon*, *GST-Theta* and *GST-Zeta*. The CarEs genes and UGTs genes of *D. suzukii* were the closest to those of *Drosophila subpulchrella*. Structural domain and conserved motif analyses showed that CYPs had a conserved P450 domain; ABCs had a conserved ABC2 domain; GSTs had a conserved GST domain; CarEs had a conserved Coestrases domain; UGTs had a conserved UDPGT domain. Conservative motifs of CYPs were EEGGKKRNDFLDLLJZLKKEG. Conservative motifs of ABCs were DCPSASNPADYIIE. Conservative motifs of GSTs were LYPKDLVKRAVVDQRLHFE.

**Keywords:** *Drosophila suzukii*; metabolic detoxification gene; phylogenetic; protein domain; conserved motif

(责任编辑:叶 静)