

实蝇科昆虫转录组研究进展

顾欣悦 柳丽君 栗耘 赵岩 郭韶堃 李志红*

(中国农业大学植物保护学院昆虫学系, 北京 100193)

摘要: 实蝇科昆虫种类繁多、危害巨大、入侵能力强,倍受植物检疫与入侵生物学领域的关注。转录组代表细胞或组织内全部的RNA转录本,反映特定状态下的基因表达模式。而依赖于高通量测序技术所衍生出的转录组测序给实蝇等非模式生物的研究带来了机遇。本文在检索实蝇科昆虫转录组序列数据和文献报道的基础上,针对实蝇科昆虫转录组的测序现状和初步应用进行了分析和总结,涉及重要经济实蝇的种类鉴定、基础生理、滞育、配子形成和交配生殖、解毒机制及防治和非编码RNA共6个方面。同时,提出了加强重要经济实蝇转录组研究的3个展望:一是加强结构基因组学和功能基因组学方面的多组学结合研究;二是开展microRNA(miRNA)等非编码RNA功能方面的探索研究;三是探索第三代测序技术的应用研究。

关键词: 实蝇科; 转录组; 研究进展

A review of transcriptome sequencing in Tephritidae

Gu Xinyue Liu Lijun Su Yun Zhao Yan Guo Shaokun Li Zhihong*

(Department of Entomology, College of Plant Protection, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract: Tephritidae is a family with many economically important pests of strong invasion ability, which has attracted great attention in the field of plant quarantine and invasion biology. The transcriptome represents all RNA transcripts in cells or tissues, reflecting patterns of gene expression at a certain stage. Transcriptome sequencing derived from high-throughput sequencing technology offers opportunities for studies of non-model organisms such as tephritids. On the basis of known sequences and literatures, we reviewed and analyzed the progress of transcriptome sequencing and its applications in economically important fruit flies, including species identification, basic physiology, reproductive development and detoxification mechanism, gamete formation and mating reproduction, detoxification mechanism and prevention as well as non-encoding RNA research. Moreover, three avenues were prospected for future research of transcriptome on economically important fruit flies. Firstly, combining other omics (transcriptomics, proteomics, metabolomics, etc.) was a good way to study mechanisms in structural and functional analysis of Tephritidae. Secondly, exploring microRNA (miRNA) and other non-coding RNA functions needs further studies in fruit flies. Thirdly, the third generation sequencing technology would be applied on Tephritidae.

Key words: Tephritidae; transcriptome; research progress

实蝇属昆虫纲 Insecta 双翅目 Diptera 实蝇科 Tephritidae。实蝇科昆虫种类繁多,世界已知约500属4 500余种,其中约1 500种实蝇与各种果实有关,

250余种具有经济意义(李志红等,2013a)。实蝇科害虫对果蔬生产危害巨大,并且在世界范围内广泛分布,入侵能力强,已经引起世界各国的高度重视。

基金项目: 国家重点研发计划(2016YFF0203202),北京市自然科学基金(6172021)

* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: lizh@cau.edu.cn

收稿日期: 2017-09-26

在我国现行的植物检疫性有害生物名录中,包括进境检疫性实蝇、全国农业检疫性实蝇及林业检疫性实蝇(梁广勤等,2003;李志红等,2013a,b)。对实蝇科昆虫进行深入研究,准确寻找鉴定种类的靶标位点,了解实蝇科昆虫进化、抗性等方面的科学问题,对实蝇科害虫的入侵防控具有重要的理论和实践指导意义。

转录组代表细胞或组织内全部的RNA转录本,反映特定状态下如生物的不同生命阶段、不同组织类型、不同生理状态以及在不同环境条件下基因的表达模式(刘红亮等,2013)。近年产生的高通量测序技术使转录组学的研究模式发生了巨大的改变,所衍生出的转录组测序给非模式生物的研究带来了机遇。利用高通量测序技术研究昆虫不同生长阶段的基因表达与调控机制,有助于了解基因转录图谱在整个发育过程中的动态变化,可为有害昆虫的防治和有益昆虫的保护提供分子依据(杨帆等,2014)。

本文对实蝇科昆虫转录组的测序概况及在实蝇科昆虫不同方面的研究应用进行总结和概括,以期对实蝇科昆虫转录组的进一步研究和应用提供新思路。

1 实蝇科昆虫转录组测序现状

1.1 实蝇科昆虫转录组测序概况

截至2017年12月,GenBank数据库中有实蝇科昆虫转录组记录共计153个,涉及5属17种(图1),其中包括按实蝇属 *Anastrepha*、果实蝇属 *Bactrocera*、小条实蝇属 *Ceratitidis*、绕实蝇属 *Rhagoletis* 及簇果实蝇属 *Zeugodacus*。测序时期涉及实蝇的胚胎、卵、幼虫、蛹和成虫5个时期,测序部位包括头部、脂肪体、中肠、胃肠道、卵巢、精巢、附腺等。主要使用的测序平台有454 GS FLX Titanium、Illumina HiSeq 2000、Illumina HiSeq 2500、Illumina Genome Analyzer 及 AB SOLiD 4 System 等,测序国家集中于美国、中国、澳大利亚及德国等。

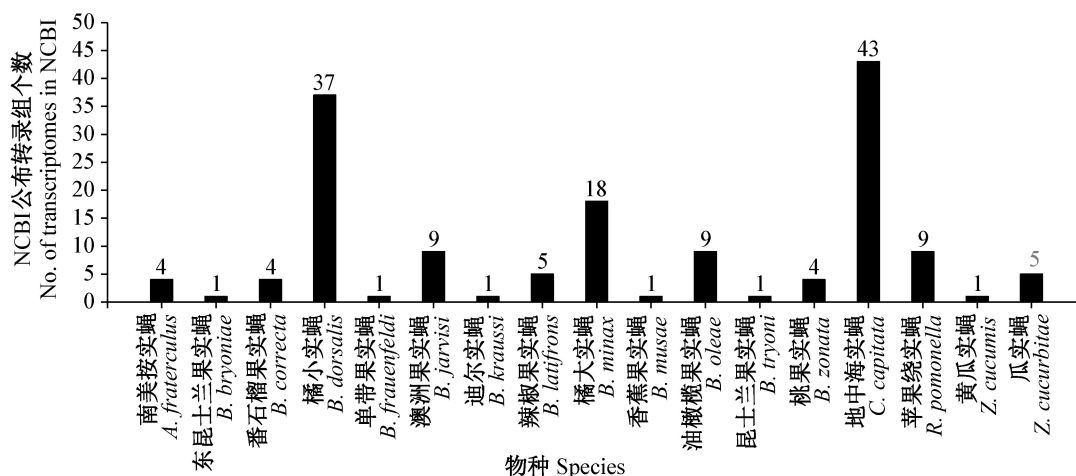


图1 GenBank中实蝇科昆虫转录组不同种数量分析统计(截至2017年12月)

Fig. 1 Statistics of transcriptomes of different Tephritidae species in GenBank (by December 2017)

1.2 实蝇科各属昆虫的测序现状

1.2.1 按实蝇属

按实蝇属目前仅涉及南美按实蝇 *A. fraterculus* 转录组,由美国测序公布了其生长发育的3个不同时期卵、蛹、雌雄成虫的转录组数据。

1.2.2 果实蝇属

果实蝇属目前是转录组测定最多的实蝇属,共涉及来自于4亚属12种的91个转录组,测序种包括东昆士兰果实蝇 *B. bryoniae*、番石榴果实蝇 *B. correcta*、橘小实蝇 *B. dorsalis*、单带果实蝇 *B. frauenfeldi*、澳洲果实蝇 *B. jarvisi*、迪尔实蝇 *B. kraussi*、辣椒果实蝇 *B. latifrons*、橘大实蝇 *B. minax*、香蕉果实蝇 *B. musae*、油橄榄果实蝇 *B. oleae*、昆士兰果实蝇 *B.*

tryoni、桃果实蝇 *B. zonata*,测序时期包括了卵、幼虫、蛹、雌雄成虫,测序部位多样,包括睾丸、卵巢和附腺等生殖器官以及中肠和脂肪体等部位,测定的RNA种类除了传统的编码RNA还涉及非编码RNA,测序平台丰富,涉及Illumina HiSeq 2500、Illumina HiSeq 2000、454 GS FLX Titanium、Illumina Genome Analyzer 和 Illumina Genome Analyzer IIx 等。测序国家集中在中国、美国、澳大利亚,其中我国关注较多的为橘小实蝇和橘大实蝇,美国较关注橘小实蝇、番石榴果实蝇、油橄榄果实蝇和澳洲果实蝇,澳大利亚则集中于其它几类实蝇的研究。果实蝇属是目前实蝇科昆虫中测序物种数最多、测序部位最全、测序平台最丰富、涉及RNA种类最多的一

类实蝇,笔者认为这与该属所涉及重要经济实蝇种类多、危害大、受重视等息息相关。

1.2.3 小条实蝇属

小条实蝇属中最受关注的种类是地中海实蝇 *C. capitata*, GenBank 中共公布了 43 个相关转录组,是目前所有实蝇种中转录组测序公布最多的实蝇,其中涉及的发育时期有胚胎、蛹、雌雄成虫,测序部位为生殖器和胃肠道,测定的 RNA 种类也为编码 RNA,主要关注的国家包括美国、德国和意大利。与果实蝇属侧重基础生理过程研究不同,地中海实蝇的转录组测定多为比较辐射与未辐射实蝇的转录组差别,提供差异基因,以期为该种实蝇的不育昆虫技术及广域治理提供参考。

1.2.4 绕实蝇属

在绕实蝇属中目前有转录组数据记录的只有苹果绕实蝇 *R. pomonella*, GenBank 中公布的共有 9 个,涉及时期包括幼虫和蛹,测序部位为头、去头虫体,测序平台为 Illumina HiSeq 2000 和 454 GS FLX Titanium,主要关注国家为美国。在苹果绕实蝇的转录组测序中,还关注了取食不同寄主如苹果和山楂的虫体的转录组区别,以研究不同寄主取食对于该虫的影响。

1.2.5 镞果实蝇属

镞果实蝇属原为果实蝇属下的一个亚属,近年来的研究报道显示,该亚属已被提升为属 (Doorensweerd et al., 2018)。该属目前的测序仅涉及 2 种实蝇——黄瓜实蝇 *Z. cucumis* 和瓜实蝇 *Z. cucurbitae* 的 6 个转录组数据,其中黄瓜实蝇是由澳大利亚进行包括编码与非编码的 RNA 全转录组测序,瓜实蝇主要由美国进行不同时期包括卵、幼虫、蛹、成虫转录组的测定,以研究瓜实蝇与生长发育、嗅觉化感相关的基因。

2 实蝇科昆虫转录组的应用

转录组目前已经广泛应用于昆虫的研究,其中大部分集中在对人类健康或农业生产有重要意义的应用型研究,如农药耐药性等方面,在其它一些研究领域,转录组主要关注昆虫的进化和行为生物学,如嗅觉和滞育的研究 (Oppenheim et al., 2015)。与昆虫整体的研究方向相似,在实蝇科昆虫转录组测序和研究中,其应用可以总结为 6 个方面,包括实蝇种类鉴定、基础生理活动 (包括基础生理活动和嗅觉相关研究)、滞育、配子形成和交配生殖 (包括生殖发育和胚胎形成、性别决定与交配竞争)、解毒机制

与实蝇防治、非编码 RNA 的研究 (图 2)。高通量的转录组测序与分析,主要用于筛选基因,以便研究其相应的功能,进而为该害虫的防治提供潜在靶标基因。

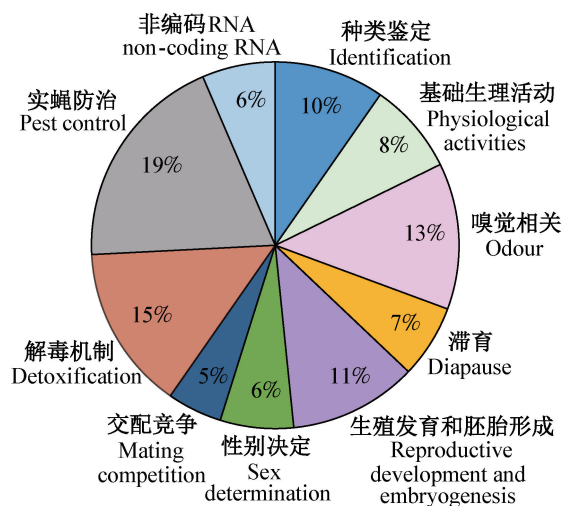


图2 实蝇科昆虫转录组研究方向扇形图

Fig. 2 The categories of transcriptomes generated for Tephritidae

2.1 实蝇科昆虫的种类鉴定

利用实蝇转录组数据库可以发掘不同种实蝇的分子标记序列,用于重要经济实蝇的区别鉴定。魏丹丹等 (2014) 基于转录组数据筛选预测橘小实蝇特异引物设计的微卫星序列 (又称简单重复序列 simple sequence repeats, SSRs) 位点 1 296 个,从中随机选取设计 42 对引物,其中有 18 对引物可以扩增得到预期大小的条带; Gao et al. (2014) 在作为控制外来入侵种紫茎泽兰生物剂的泽兰始实蝇 *Procecidochares utilis* 转录组中发现了 5 723 个有潜力作为物种鉴定标记的 SSR 位点; Wang et al. (2016) 在橘大实蝇的转录组信息中也筛选到 1 909 个有潜力作为物种鉴定标记的 SSR 位点。此外,利用转录组数据还可以为筛选相似种分化的候选基因及识别鉴定物种提供理论基础。如 Rezende et al. (2016) 分析了 2 种相似种南美按实蝇和西印度按实蝇 *A. obliqua* 的头部转录组的差异表达基因,最终筛选鉴定了 2 个种间 164 个高度分化的 unigenes 作为物种分化的潜在候选基因,即单核苷酸的多态性位点 (single nucleotide polymorphism, SNP) 筛选。利用转录组分析还可比较实蝇和相似物种黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 之间的同源基因,如在缺乏基本的基因组信息的橘小实蝇和瓜实蝇的转录组分析 (Geib et al., 2014; Sim et al., 2015)。笔者认为,实蝇科鉴定

的转录组研究目前集中于依靠转录组的测序功能进行相应特异位点的检测,涉及的实蝇种类较丰富。此部分研究不仅可以用于实蝇科等缺乏基因组数据的昆虫的准确鉴定,还将增加对其比较基因组学和功能基因组学的知识,增加对生物多样性、分子分类学、群体遗传学、遗传连锁图谱构建的研究(Goncalves et al., 2013; Geib et al., 2014),并能针对植物检疫相关工作实际需求,如实蝇近似种、残体等鉴定带来新的思路。

2.2 实蝇科昆虫的基础生理研究

转录组测序技术的发展促进了昆虫转录组学的研究,为全面揭示昆虫的生命活动奠定了理论基础(张美翠等, 2014)。目前实蝇基础生理的研究主要集中在参与基础生理活动和嗅觉机制及化感器的重要基因的鉴定及功能研究,主要方法为依托转录组进行特定组织、发育时期(袁国瑞等, 2016)或者不同种类、不同处理(Campanini & de Brito, 2016)的测序,结合相关生物信息学分析确定主要参与调节调控的关键基因,然后结合RNA干扰(彭涛, 2013; 彭威等, 2014)等技术进行相应功能的验证与研究。此类研究可揭示实蝇相关生理活动,并基于相关基因提供精准的防治策略(Liu et al., 2016),笔者认为该类研究具有较为突出的意义。

2.2.1 实蝇科昆虫基础生理活动重要基因功能研究

对实蝇科昆虫基础生理活动的研究多集中于橘小实蝇的研究,主要使用转录组结合其它技术如实时荧光定量技术、RNA干扰等来探究重要基因的功能。如田怡(2015)利用转录组测序技术结合实时荧光定量技术筛选鉴定到9个参与橘小实蝇重要细胞生理活动的小热激蛋白基因;袁国瑞等(2016)利用转录组测序技术结合实时荧光定量技术推测了橘小实蝇烟碱型乙酰胆碱nAChR $\alpha 9$ 受体在成虫期的重要功能;彭涛(2013)和彭威等(2014)利用转录组、实时荧光定量技术和RNA干扰筛选分析了在信号传递和囊泡运输中发挥重要作用的Rab蛋白,证明该基因的干扰会影响脂肪体细胞的营养积累过程,进而对实蝇组织形态和羽化等生理过程造成影响。

2.2.2 实蝇科昆虫的化感器和嗅觉机理研究

在其它实蝇种类基础生理过程的研究中,大部分研究集中于利用转录组分析洞察实蝇科昆虫的化感器和嗅觉机理,了解相关通路中基因的潜在功能,鉴定与化感和嗅觉相关的蛋白。目前已有关于苹果绕实蝇(Schwarz et al., 2009)、枣实蝇 *Carpomya vesuviana* (Li et al., 2017a)、瓜实蝇(Elfekih et al., 2016)、

橘小实蝇(Zheng et al., 2013; Liu et al., 2016)的研究。同时针对嗅觉的研究也能为解决相似实蝇种不同的寄主偏好性提供理论基础,如Campanini & de Brito(2016)针对有不同宿主偏好的南美按实蝇和西印度按实蝇其交配前后和雌性产卵后雌雄虫气味结合蛋白进行转录组测定,通过鉴定比较证明2种实蝇气味结合蛋白的主要变化出现在几个氨基酸之间的同源基因,推测这可能与2种实蝇寄主偏好性相关。此外,关于嗅觉的研究可以为筛选有效的引诱剂来控制害虫和使用化学方法扰乱昆虫行为提供参考,并为害虫监测管理提供依据(Liu et al., 2016)。

2.3 实蝇科昆虫的滞育研究

实蝇科昆虫中部分实蝇如橘大实蝇和苹果绕实蝇等蛹的长滞育时间是人工饲养和研究相关机制的主要瓶颈(Dong et al., 2014),通过转录组学来筛选不同滞育时期的表达基因,有助于发现和研究昆虫滞育反应的关键基因。王刘豪(2013)和Dong et al. (2014)针对不同滞育时期的橘大实蝇进行了转录组测序分析,并结合实时荧光定量技术初步探究了其滞育机理,结果证明差异表达基因主要集中在涉及细胞增殖、蛋白质加工和运输、代谢、应激反应等生理过程,验证了20-羟基会终止滞育过程,并推测许多参与核糖体和代谢相关基因的差异表达可能介导了滞育的过渡;Schwarz et al. (2009)利用转录组测序技术比较了苹果绕实蝇滞育间期和后期的蛹,结果显示在逐步变暖气候下,滞育的2个群体中均呈现相关转录本先上调后下调的表达模式,这说明在温度刺激下昆虫产生抑制生长的能力至关重要,因为可以避免不匹配的物候和过度的代谢需求。

2.4 实蝇科昆虫配子形成和交配生殖过程的研究

实蝇科昆虫繁殖能力强,并且具有多重交配的习性(魏冬, 2015),给农业生产带来了巨大损失。转录组作为一种基因功能研究的有效工具,在实蝇科昆虫的生殖相关研究中起着重要作用。在所有转录组研究报道中,此类研究涉及的实蝇种类最为多样,可参考的文献也最为丰富,并且进行了非编码RNA的前沿研究(Tariq et al., 2016)。目前涉及生殖相关的实蝇科昆虫转录组研究主要集中在不同种实蝇的生殖发育、胚胎形成、性别决定和竞争交配等重要过程,目的是探索鉴定关键基因和研究重要基因功能,以期为进一步研究重要经济实蝇的生殖发育过程及防治提供参考。

2.4.1 实蝇科昆虫生殖发育和胚胎形成

在实蝇科昆虫生殖发育和胚胎形成的研究中,

主要集中在实蝇生殖器官和不同时期胚胎的转录组测序比较,研究涉及的实蝇种类也比较丰富。如Sagri et al.(2014a)对油橄榄果实蝇的雌性附腺、受精囊及雄性睾丸的转录组进行比较,根据组织差异表达基因分析发现睾丸中代谢活性比雌性附腺/受精囊高,并对已有研究证明在昆虫大规模饲养中会对早期胚胎具有杀伤作用的胚胎发育阶段启动子*serendipity-a*基因表达谱和前凋亡基因缺陷进行了表达分析;Gomulski et al.(2012)基于微阵列的基因表达方法比较了地中海实蝇雌虫性成熟前后和交配个体的头部转录组,集中研究与生殖、行为等过程有关的转录本变化,以增加对地中海实蝇性成熟和交配分子机制的理解;Wei et al.(2015)结合橘小实蝇雄性生殖器官精巢和雄性附腺的转录组测序及精巢的全蛋白组测序,鉴定了橘小实蝇雄性附腺的分泌蛋白和参与精子形成的功能基因并分析了精巢组织中的蛋白组成;Tian et al.(2017)结合橘小实蝇脂肪体、雄性附腺和睾丸3个组织的转录组比较,鉴定组织特异性表达基因以确定参与精子活力和精子特异性基因;Tariq et al.(2016)研究了microRNA(miRNA)对橘小实蝇精子形成的作用;Zheng et al.(2016)利用橘小实蝇未性成熟和性成熟的雌蝇转录组鉴定了多个参与性成熟并涉及生殖过程的差异基因,并利用表达模式分析证明检测的大多数差异基因高度富集在卵巢和脂肪体中,所有检测到的抗菌肽在交配24 h后在脂肪体中高度富集,并且出现显著上调;Goncalves et al.(2013)测序西印度按实蝇雌性生殖组织转录组,通过序列扩增分析参与卵壳形成并且高度表达的绒毛膜和卵黄蛋白基因,以评估鉴定高进化率基因来揭示种群进化。

2.4.2 实蝇科昆虫的性别决定

在实蝇科昆虫性别决定的转录组分析中,主要集中于鉴定相关性别决定基因和其表达调控机制。Gomulski et al.(2008)利用表达序列标签鉴定地中海实蝇胚胎同源序列 transformer 2(*tra-2*)的基因结构和表达特点,揭示了关于*tra-2*和其它性别决定基因的转录调控模式;Salvemini et al.(2014)在对地中海实蝇胚盘细胞化阶段的胚胎进行转录组测序中发现,高表达基因中转录编码RNA结合蛋白如*tra-2*的富集参与雌性性别的形成和维持;Morrow et al.(2014)在澳洲果实蝇产卵后收集早期雄性和雌性胚胎测定转录组,鉴定了早期胚胎中与黑腹果蝇同源的16个性别决定基因;Peng et al.(2016)探究了橘小实蝇雌雄性别决定生理过程的相关性别特异性

miRNA基因。

2.4.3 实蝇科昆虫的交配竞争

针对交配竞争过程的研究主要集中于昆士兰果实蝇和地中海实蝇。2014年昆士兰科技大学Kumaran et al.(2014)以参与增加能量代谢相关物质姜油酮饲喂昆士兰果实蝇,比较添加姜油酮与剥夺姜油酮试验处理的实蝇转录组,分析显示在饲喂姜油酮实蝇组中共有3 183个基因上调,这些同源基因涉及参与调节雄性内竞争、信息素合成、交配和副性腺蛋白产生等过程,结合行为分析结果显示取食将导致复杂的生理变化,从而影响雄性竞争力;San Andres et al.(2013)基于全基因组表达分析结合表达序列标签测序和微阵列表达分析方法鉴定了地中海实蝇生殖状态下可作为成熟化分子标记的新候选基因,并发现伴随着地中海实蝇的成熟过程,参与生殖的基因如卵黄原蛋白基因等的转录水平明显增加;Calla et al.(2014)在地中海实蝇的研究中使用转录组探讨了大规模饲养的经过辐照处理和未经辐照处理的实蝇相比于野外种群基因表达的显著变化,结果表明饲养种群在交配竞争力及寻找寄主植物方面的能力可能低于野外实蝇。这些研究结果为如何增加大规模饲养实蝇的竞争力,以应用于不育昆虫技术研究提供了理论基础。

2.5 实蝇科昆虫的解毒机制及防治研究

实蝇科具有较强的繁殖能力(魏冬,2015)并且危害巨大(李志红等,2013a),目前主要的防治方法为化学防治(Jin et al.,2011;Bhagat et al.,2013)。但近些年其对杀虫剂的抗药性成为害虫控制的一个关键问题(Cheng et al.,2017)。利用转录组进行解毒机制的研究,并根据参与实蝇相关生理活动、解毒代谢等重要通路进行探索,有目标、专一地进行靶标基因的干扰(Wang et al.,2011),将给重要昆虫的防治带来新机遇(Huvenne & Smagghe,2010)。

2.5.1 实蝇科昆虫的解毒机制

通过对转录组的分析、相关基因的测序和定量,可以提供与实蝇抗药性这一具有挑战性问题相关的、有价值的信息。如利用橘小实蝇转录组可以筛选克隆相应的解毒基因用于解毒基因功能的研究:申光茂等(2014)克隆橘小实蝇羧酸酯酶基因序列研究其对高效氯氰菊酯作用的应激反应;魏冬等(2014)克隆谷氨酸脱羧酶基因以研究橘小实蝇抵御阿维菌素毒害的作用;Hou et al.(2014)鉴定了橘小实蝇中肠中5个丝氨酸蛋白酶基因以研究其在橘小实蝇减轻杀虫剂毒害过程中的解毒作用。

利用转录组还可以探究基因在实蝇发育抵御杀虫剂过程中的作用,对于细胞解毒机制的研究以阐明实蝇产生抗药性的原因以及实蝇生物学方面的研究有重要意义(Shen et al., 2011; Zheng et al., 2012; Yang et al., 2014)。Pavlidis et al. (2013)对油橄榄果实蝇的转录组研究发现,转录解毒基因可以间接参与油橄榄果实蝇外源性物质如植物毒素和杀虫剂等的处理过程;Sagri et al. (2014b)利用转录组比较了油橄榄果实蝇多杀菌素敏感型和抗性型的差异基因表达以探究其对多杀菌素的耐药机制,结果显示免疫位点与在抗性品系中提升的能量需求可能对于解毒作用至关重要。橘小实蝇解毒机制的转录组分析研究主要集中在对橘小实蝇有重要解毒作用的中肠或脂肪体的测序分析方面,这对了解实蝇科昆虫分子解毒机制有着重要的作用,将为橘小实蝇的可持续治理提供理论依据(申光茂, 2013; Shen et al., 2013; Yang et al., 2014)。Yang et al. (2014)利用脂肪体转录组数据深入分析和鉴定了参与橘小实蝇免疫、解毒和能量代谢的相关基因;申光茂等(2015)结合橘小实蝇中肠的转录组数据,系统分析其幼虫解毒代谢酶系基因在受到高效氯氰菊酯持续胁迫时在整头虫、中肠和脂肪体中的表达模式,推测在应对杀虫剂的持续胁迫时,害虫可以采取有效的利用和适当的能量分配策略,从而提高能源利用效率以减少额外的能源成本来抵御外源毒素的破坏,这种策略可能是避免昆虫出现适合度代价从而更好地应对环境压力;Li et al. (2017b)结合转录组测序数据鉴定了橘小实蝇5种胰蛋白酶基因,并通过RNA干扰技术来分析探究其对橘小实蝇生长发育的影响,结果证明5种胰蛋白酶基因混合饲喂会延缓其生长。

2.5.2 实蝇科昆虫的防治

转录组测序技术可提供有效的害虫防治方法,以应用于防治过程中各个环节,也为研究控制策略、调查和消灭实蝇科害虫提供改进的新方法(Geib et al., 2014)。

利用转录组针对重要基因进行功能研究可以为实蝇科害虫的防治提供有效监控策略,如新型引诱剂的开发。Li et al. (2017a)利用枣实蝇转录组研究了其嗅觉信号转导通路中可作为潜在靶标基因的6种气味结合蛋白基因,这为研发筛选新型引诱剂进而监测害虫提供了参考依据。除此之外,转录组研究还可以为高效治理策略如雄性不育、RNA干扰和转基因控制等技术提供潜在的靶标基因,如在昆虫不育技术的研究中,Sagri et al. (2014a)对油橄榄果实

蝇雌性生殖器官的转录组进行比较并研究对早期雌性胚胎具有杀伤作用的启动子,以期促进对油橄榄果实蝇不育技术的应用;Gomulski et al. (2012)和Scolari et al. (2014)通过对地中海实蝇转录组进行研究,筛选与代谢合成、配子形成等相关基因的信息,进一步对该种实蝇的不育技术进行探索;上述这些研究结果也同样为相似实蝇种雄性不育技术的研究提供了参考与启发。在筛选潜在靶标基因用于RNA干扰技术的研究中,Calla & Geib (2015)通过橘小实蝇的转录组对具有重要生理作用的非编码RNA进行测序分析,鉴定并聚类相关的保守miRNA;Zheng et al. (2012)和Shen et al. (2013)对橘小实蝇相关发育繁殖和中肠代谢解毒的基因进行分析研究以作为害虫防治的靶标基因;Guo et al. (2018)通过对比橘小实蝇和番石榴果实蝇幼虫和雌雄成虫转录组中与飞行能力相关的基因以揭示2种实蝇的飞行机制,为实蝇防治候选靶标基因的筛选提供参考。针对转基因控制的研究较少,目前仅见Morrow et al. (2014)对澳洲果实蝇早期雌雄胚胎的研究,以为实蝇转基因害虫治理策略提供有效候选基因的启动子。

除了针对实蝇科昆虫本身关键基因的研究,转录组测序还可应用于实蝇天敌的研究,如对实蝇寄生蜂长尾迪茧蜂*Diachasmimorpha longicaudata*的性别决定基因鉴定(Mannino et al., 2016)、螞费氏茧蜂*Fopius arisanus*的生物学和行为研究(Calla et al., 2015)、蛹寄生蜂蝇蛹俑小蜂*Spalangia endius*的味觉感受器和气味受体基因鉴定,这些研究有助于确定寄生蜂种群的多态性和功能基因(Zhang et al., 2014)。

2.6 实蝇科昆虫非编码RNA的研究

在实蝇科昆虫非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)的研究中,多集中于miRNA,miRNA指的是片段较短、相对保守、非编码的在调节基因表达过程中起关键作用的RNA(Huang et al., 2014)。昆虫miRNA的研究表明其参与调控细胞分化、增殖及凋亡、胚胎发育等几乎所有的生物过程。因此,深入研究其生物功能、调控网络和开发应用等具有重要价值和意义(刘永平等, 2013)。在实蝇科昆虫的研究中,有关miRNA的初步探索主要集中于橘小实蝇。如Huang et al. (2014)针对橘小实蝇4个不同发育时期的miRNA进行测序,共鉴定出123个已知的miRNA和60个新的miRNA,超过一半的miRNA在4个发育阶段具有阶段特异性,针对其中6个的miRNA定量结果推测其可能参与发育调控进程;Calla et al. (2015)针对橘小实蝇在基因沉默过程中发挥重要作

用的miRNA进行转录组测序,并与黑腹果蝇进行了比较分析,鉴定出75个同源的miRNA和5个该属特有的miRNA,旨在应用于基于基因沉默和转基因控制的新策略开发及应用研究;Tariq et al.(2016)在针对其参与精子发生的3个不同发育时期的睾丸进行miRNA深度测序,研究miRNA对精子形成的作用;Peng et al.(2016)通过构建橘小实蝇去除卵巢的雌性、去除睾丸的雄性及卵巢、睾丸的4个miRNA库,从中鉴定了183个已知miRNA和120个新的miRNA,通过比较得到橘小实蝇性别特异性的miRNA并预测miR-989-3p是实蝇科昆虫性别决定关键基因的靶基因开关。在实蝇科昆虫的研究中进一步分析非编码RNA的表达和功能,可以增加对此类昆虫生命活动调控等的理解,产生控制监管的新方法(Huang et al., 2014)。

3 展望

基于当前实蝇科昆虫转录组的研究现状,结合国内外昆虫领域的研究热点以及实蝇类害虫防控需求,本研究提出关于重要经济实蝇转录组未来研究中3个应注意的问题。

一是加强针对重要经济实蝇结构基因组学和功能基因组学的多组学结合(转录组学、蛋白质组学、代谢组等)研究。目前在其它昆虫的研究中多组学结合已有了比较广泛的应用,如利用蛋白质组结合转录组进行机制等深层次的研究。Zhao et al.(2017)利用转录组结合蛋白质组在二斑叶螨 *Tetranychus urticae* 早期滞育和雌性成虫的比较分析中确定了Ca²⁺信号通路在滞育调控中的实质性作用;Qiu et al.(2016)结合转录组和蛋白质组研究了与褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 繁殖力相关基因的功能,并为该害虫的防治提供了参考靶标基因。转录组学、蛋白质组学、代谢组3个组学的结合研究在其它昆虫中也有报道,如Keeling et al.(2016)利用转录组、蛋白质组结合代谢组鉴定发现,森林害虫山松大小蠹 *Dendroctonus ponderosae* 经过III型保幼激素处理后,通过不同性别和组织之间的蛋白质和转录本差异表达来筛选参与甲虫诱集信息素合成的基因。在实蝇科昆虫的研究中,仅见利用转录组结合蛋白质组对橘小实蝇精巢组织进行分析,鉴定参与精子发生和形成过程中的重要基因并确定分泌蛋白(魏冬, 2015)。多组学的结合将更有利于对实蝇科昆虫涉及生长发育、繁殖适应等方面的潜在机理的探索和防治如不育技术的研究应用(Scolari et al., 2014)。

由于传统的分子生物学研究针对单个基因进行,难以揭示分子调控机制的全貌,因此组学研究应运而生。利用组学研究技术可以快速、方便地获得可能与某一性状相关的所有基因,在各个层次系统全面地阐明其分子机制(王书平等, 2016)。特别是在多组学结合的基础上,能够进行更为准确、快速的基因功能研究和挖掘,应用新型技术如CRISPR-Cas9介导的基因组定点编辑技术和基因RNA干扰技术,将使害虫的防治和资源昆虫的利用出现革命性变化(侯丽等, 2017)。

二是开展针对重要经济实蝇miRNA等非编码RNA功能方面的探索研究。ncRNA是现代遗传学研究的热点,作为表观遗传学调控的新机制是细胞内一种内源的控制因子,能行使多重功能,使基因之间直接相互作用(薛娟, 2012)。目前关于实蝇科昆虫ncRNA的研究主要集中于其在橘小实蝇精子发生、发育等过程中的作用研究(Calla & Geib, 2015; Peng et al., 2016; Tariq et al., 2016),其它重要经济实蝇如地中海实蝇、番石榴果实蝇、瓜实蝇等尚未开展ncRNA的全RNA转录组相关研究。ncRNA种类繁多,包括引导RNA(guide RNA, gRNA)、miRNA、小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)等(薛娟, 2012),在实蝇科昆虫中仅对miRNA、siRNA进行了初步研究,今后可增加其它种类ncRNA在重要经济实蝇中的功能研究探索。

三是探索针对重要经济实蝇第三代测序技术的应用研究。第二代测序技术产生后广泛应用于转录组等测序研究中,目前一种新型测序技术——第三代测序技术的出现又为基因组学、转录组学及DNA甲基化等研究注入了新活力(曹晨霞等, 2016)。第三代测序技术已经在转录组测序中成功应用于人类造血组细胞中的巨核细胞(Chen et al., 2014)、一类蘑菇形状真菌类(Gordon et al., 2015),但尚未见到第三代测序技术在实蝇科昆虫转录组中的应用。第三代测序技术相较第二代测序技术具有通量更高、速度更快、读长更长、假阳性率更低等诸多优点,在未来实蝇科昆虫特别是重要经济实蝇研究中有着巨大的发展潜力。

参 考 文 献 (References)

- Bhagat D, Samanta SK, Bhattacharya S. 2013. Efficient management of fruit pests by pheromone nanogels. *Scientific Reports*, 3: 1294
- Calla B, Geib SM. 2015. MicroRNAs in the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis*: extending *Drosophila* miRNA conservation to the Tephritidae. *BMC Genomics*, 16: 740

- Calla B, Hall B, Hou SB, Geib SM. 2014. A genomic perspective to assessing quality of mass-reared SIT flies used in Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*) eradication in California. *BMC Genomics*, 15: 98
- Calla B, Sim SB, Hall B, DeRego T, Liang GH, Geib SM. 2015. Transcriptome of the egg parasitoid *Fopius arisanus*: an important bio-control tool for tephritid fruit fly suppression. *GigaScience*, 4: 36
- Campanini EB, de Brito RA. 2016. Molecular evolution of odorant-binding proteins gene family in two closely related *Anastrepha* fruit flies. *BMC Evolutionary Biology*, 16(1): 198
- Cao CX, Han W, Zhang HP. 2016. Application of third generation sequencing technology to microbial research. *Microbiology China*, 43(10): 2269–2276 (in Chinese) [曹晨霞, 韩琬, 张和平. 2016. 第三代测序技术在微生物研究中的应用. *微生物学通报*, 43(10): 2269–2276]
- Chen L, Kostadima M, Martens JHA, Canu G, Garcia SP, Turro E, Downes K, Macaulay IC, Bielczyk-Maczynska E, Coe S, et al. 2014. Transcriptional diversity during lineage commitment of human blood progenitors. *Science*, 345(6204): 1251033
- Cheng DF, Guo ZJ, Riegler M, Xi ZY, Liang GW, Xu YJ. 2017. Gut symbiont enhances insecticide resistance in a significant pest, the oriental fruit fly *Bactrocera dorsalis* (Hendel). *Microbiome*, 5(1): 13
- Dong YC, Desneux N, Lei CL, Niu CY. 2014. Transcriptome characterization analysis of *Bactrocera minax* and new insights into its pupal diapause development with gene expression analysis. *International Journal of Biological Sciences*, 10(9): 1051–1063
- Dooreweerd C, Leblanc L, Norrbom AL, San Jose M, Rubinoff D. 2018. A global checklist of the 932 fruit fly species in the tribe Dacini (Diptera, Tephritidae). *ZooKeys*, 730: 17–54
- Elfekih S, Chen CY, Hsu JC, Belcaid M, Haymer D. 2016. Identification and preliminary characterization of chemosensory perception-associated proteins in the melon fly *Bactrocera cucurbitae* using RNA-seq. *Scientific Reports*, 6: 19112
- Gao X, Zhu JY, Ma S, Zhang Z, Xiao C, Li Q, Li ZY, Wu GX. 2014. Transcriptome profiling of the crofton weed gall fly *Procecidochares utilis*. *Genetics and Molecular Research*, 13(2): 2857–2864
- Geib SM, Calla B, Hall B, Hou SB, Manoukis NC. 2014. Characterizing the developmental transcriptome of the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae) through comparative genomic analysis with *Drosophila melanogaster* utilizing modENCODE datasets. *BMC Genomics*, 15: 942
- Gomulski LM, Dimopoulos G, Xi Z, Soares MB, Bonaldo MF, Malacrida AR, Gasperi G. 2008. Gene discovery in an invasive tephritid model pest species, the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. *BMC Genomics*, 9: 243
- Gomulski LM, Dimopoulos G, Xi ZY, Scolari F, Gabrieli P, Siciliano P, Clarke AR, Malacrida AR, Gasperi G. 2012. Transcriptome profiling of sexual maturation and mating in the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. *PLoS ONE*, 7(1): e30857
- Goncalves VR, Sobrinho IS Jr., Malago W Jr., Henrique-Silva F, de Brito RA. 2013. Transcriptome analysis of female reproductive tissues of *Anastrepha obliqua* and molecular evolution of eggshell proteins in the fraterculus group. *Insect Molecular Biology*, 22(5): 551–561
- Gordon SP, Tseng E, Salamov A, Zhang J, Meng X, Zhao Z, Kang D, Underwood J, Grigoriev IV, Figueroa M, et al. 2015. Widespread polycistronic transcripts in fungi revealed by single-molecule mRNA sequencing. *PLoS ONE*, 10(7): e0132628
- Guo SK, Zhao ZH, Liu LJ, Li ZH, Shen J. 2018. Comparative transcriptome analyses uncover key candidate genes mediating flight capacity in *Bactrocera dorsalis* (Hendel) and *Bactrocera correcta* (Bezzi) (Diptera: Tephritidae). *International Journal of Molecular Sciences*, 19(2): 396
- Hou L, Zhan S, Zhou X, Li F, Wang XH. 2017. Advances in research on insect genomics in China. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 54(5): 693–704 (in Chinese) [侯丽, 詹帅, 周欣, 李飞, 王宪辉. 2017. 中国昆虫基因组学的研究进展. *应用昆虫学报*, 54(5): 693–704]
- Hou MZ, Shen GM, Wei D, Li YL, Dou W, Wang JJ. 2014. Characterization of *Bactrocera dorsalis* serine proteases and evidence for their indirect role in insecticide tolerance. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(2): 3272–3286
- Huang Y, Dou W, Liu B, Wei D, Liao CY, Smagghe G, Wang JJ. 2014. Deep sequencing of small RNA libraries reveals dynamic expression patterns of microRNAs in multiple developmental stages of *Bactrocera dorsalis*. *Insect Molecular Biology*, 23(5): 656–667
- Huvenne H, Smagghe G. 2010. Mechanisms of dsRNA uptake in insects and potential of RNAi for pest control: a review. *Journal of Insect Physiology*, 56(3): 227–235
- Jin T, Zeng L, Lin YY, Lu YY, Liang GW. 2011. Insecticide resistance of the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae), in mainland China. *Pest Management Science*, 67(3): 370–376
- Keeling CI, Li M, Sandhu HK, Henderson H, Saint Yuen MM, Bohlmann J. 2016. Quantitative metabolome, proteome and transcriptome analysis of midgut and fat body tissues in the mountain pine beetle, *Dendroctonus ponderosae* Hopkins, and insights into pheromone biosynthesis. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 70: 170–183
- Kumaran N, Prentis PJ, Mangalam KP, Schutze MK, Clarke AR. 2014. Sexual selection in true fruit flies (Diptera: Tephritidae), transcriptome and experimental evidences for phytochemicals increasing male competitive ability. *Molecular Ecology*, 23(18): 4645–4657
- Li YL, Hou MZ, Shen GM, Lu XP, Wang Z, Jia FX, Wang JJ, Dou W. 2017b. Functional analysis of five trypsin-like protease genes in the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 136: 52–57
- Li YW, Zhou P, Zhang JH, Yang D, Li ZH, Zhang XL, Zhu SF, Yu YX, Chen NZ. 2017a. Identification of odorant binding proteins in *Carpomya vesuviana* and their binding affinity to the male-borne semiochemicals and host plant volatiles. *Journal of Insect Physiology*, 100: 100–107
- Li ZH, Buahom N, Hu JT, Zhang Q, Fang Y. 2013b. Review on invasion origin and invasion mechanism of Tephritidae. *Plant Quarantine*, 27(3): 1–12 (in Chinese) [李志红, Buahom N, 胡俊韬, 张俏, 方焱. 2013b. 实蝇科害虫入侵来源与入侵机制研究进展. *植物检疫*, 27(3): 1–12]

- Li ZH, Jiang F, Ma XL, Fang Y, Sun ZZ, Qin YJ, Wang QL. 2013a. Review on prevention and control techniques of Tephritidae invasion. *Plant Quarantine*, 27(2): 1–10 (in Chinese) [李志红, 姜帆, 马兴莉, 方焱, 孙壮志, 秦誉嘉, 王巧铃. 2013a. 实蝇科害虫入侵防控技术研究进展. *植物检疫*, 27(2): 1–10]
- Liang GQ, Liang F, Wu JJ, Shao QH, Wu SH, Chen QS. 2003. Control principle and measures of Tephritidae. *Guangdong Agricultural Sciences*, (1): 36–38 (in Chinese) [梁广勤, 梁帆, 吴佳教, 邵庆华, 吴士豪, 陈其生. 2003. 实蝇的防治原理及防治措施. *广东农业科学*, (1): 36–38]
- Liu HL, Zheng LM, Liu QQ, Quan FS, Zhang Y. 2013. Studies on the transcriptomes of non-model organisms. *Hereditas*, 35(8): 955–970 (in Chinese) [刘红亮, 郑丽明, 刘青青, 权富生, 张涌. 2013. 非模式生物转录组研究. *遗传*, 35(8): 955–970]
- Liu YP, Yang J, Liu Y. 2013. Research progress in microRNAs in insects. *Acta Entomologica Sinica*, 56(9): 1026–1037 (in Chinese) [刘永平, 杨静, 刘蕴. 2013. 昆虫 microRNA 的研究进展. *昆虫学报*, 56(9): 1026–1037]
- Liu Z, Smagghe G, Lei ZR, Wang JJ. 2016. Identification of male- and female-specific olfaction genes in antennae of the oriental fruit fly (*Bactrocera dorsalis*). *PLoS ONE*, 11(2): e0147783
- Mannino MC, Rivarola M, Scannapieco AC, Gonzalez S, Farber M, Cladera JL, Lanzavecchia SB. 2016. Transcriptome profiling of *Diachasmimorpha longicaudata* towards useful molecular tools for population management. *BMC Genomics*, 17(1): 793
- Morrow JL, Riegler M, Gilchrist AS, Shearman DCA, Frommer M. 2014. Comprehensive transcriptome analysis of early male and female *Bactrocera jarvisi* embryos. *BMC Genetics*, 15(S2): 7
- Oppenheim SJ, Baker RH, Simon S, DeSalle R. 2015. We can't all be supermodels: the value of comparative transcriptomics to the study of non-model insects. *Insect Molecular Biology*, 24(2): 139–154
- Pavlidis N, Dermauw W, Rombauts S, Chrysargyris A, van Leeuwen T, Vontas J. 2013. Analysis of the olive fruit fly *Bactrocera oleae* transcriptome and phylogenetic classification of the major detoxification gene families. *PLoS ONE*, 8(6): e66533
- Peng T. 2013. Expression profiles and function study of *Rab* genes in *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae). Master Thesis. Wuhan: Huazhong Agricultural University (in Chinese) [彭涛. 2013. 橘小实蝇 *Rab* 基因表达模式与功能研究. 硕士学位论文. 武汉: 华中农业大学]
- Peng W, Tariq K, Xie JF, Zhang HY. 2016. Identification and characterization of sex-biased microRNAs in *Bactrocera dorsalis* (Hendel). *PLoS ONE*, 11(7): e0159591
- Peng W, Zheng WW, Peng T, Wu FY, Zhang HY. 2014. Identification and gene expression pattern analysis of *Rab* family genes in *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Environmental Entomology*, 36(1): 71–77 (in Chinese) [彭威, 郑薇薇, 彭涛, 吴方玉, 张宏宇. 2014. 橘小实蝇 *Rab* 家族基因鉴定和表达模式研究. *环境昆虫学报*, 36(1): 71–77]
- 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
- Rezende VB, Congrains C, Lima ALA, Campanini EB, Nakamura AM, de Oliveira JL, Chahad-Ehlers S, Junior IS, de Brito RA. 2016. Head transcriptomes of two closely related species of fruit flies of the *Anastrepha fraterculus* group reveals divergent genes in species with extensive gene flow. *G3-Genes Genomes Genetics*, 6(10): 3283–3295
- Sagri E, Reczko M, Gregoriou ME, Tsoumani KT, Zygouridis NE, Salpea KD, Zalom FG, Ragoussis J, Mathiopoulos KD. 2014b. Olive fly transcriptomics analysis implicates energy metabolism genes in spinosad resistance. *BMC Genomics*, 15: 714
- Sagri E, Reczko M, Tsoumani KT, Gregoriou ME, Harokopos V, Mavridou AM, Tastsoglou S, Athanasiadis K, Ragoussis J, Mathiopoulos KD. 2014a. The molecular biology of the olive fly comes of age. *BMC Genetics*, 15(S2): 8
- Salvemini M, Arunkumar KP, Nagaraju J, Sanges R, Petrella V, Tomar A, Zhang HY, Zheng WW, Saccone G. 2014. *De novo* assembly and transcriptome analysis of the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* early embryos. *PLoS ONE*, 9(12): e114191
- San Andres V, Castanera P, Sabater-Munoz B. 2013. Transcriptome analysis in *Ceratitis capitata* to unveil genes involved in ageing-maturation process. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 11(3): 842–854
- Schwarz D, Robertson HM, Feder JL, Varala K, Hudson ME, Ragland GJ, Hahn DA, Berlocher SH. 2009. Sympatric ecological speciation meets pyrosequencing: sampling the transcriptome of the apple maggot *Rhagoletis pomonella*. *BMC Genomics*, 10: 633
- Scolari F, Gomulski LM, Gabrieli P, Manni M, Savini G, Gasperi G, Malacrida AR. 2014. How functional genomics will impact fruit fly pest control: the example of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. *BMC Genetics*, 15(S2): 11
- Shen GM. 2013. Identification of genes encoding digestion and detoxification enzymes of *Bactrocera dorsalis* [Hendel (Diptera: Tephritidae)] and their response to toxicity stress. Ph. D Thesis. Chongqing: Southwest University (in Chinese) [申光茂. 2013. 桔小实蝇消化和解毒代谢相关基因鉴定及其对药剂胁迫的应激反应. 博士学位论文. 重庆: 西南大学]
- Shen GM, Dou W, Huang Y, Jiang XZ, Smagghe G, Wang JJ. 2013. In silico cloning and annotation of genes involved in the digestion, detoxification and RNA interference mechanism in the midgut of *Bactrocera dorsalis* [Hendel (Diptera: Tephritidae)]. *Insect Molecular Biology*, 22(4): 354–365
- Shen GM, Dou W, Niu JZ, Jiang HB, Yang WJ, Jia FX, Hu F, Cong L, Wang JJ. 2011. Transcriptome analysis of the oriental fruit fly (*Bactrocera dorsalis*). *PLoS ONE*, 6(12): e29127
- Shen GM, Dou W, Wang JJ. 2014. Cloning and expression analysis of a carboxylesterase gene *BdCAREB1* from *Bactrocera dorsalis*. *Scientia Agricultura Sinica*, 47(10): 1947–1955 (in Chinese) [申光茂, 豆威, 王进军. 2014. 橘小实蝇羧酸酯酶基因 *BdCAREB1* 的克隆及其表达模式解析. *中国农业科学*, 47(10): 1947–1955]
- Shen GM, Wang XN, Huang Y, Dou W, Wang JJ. 2015. Tissue specific expression of genes encoding detoxification enzymes in the larvae of *Bactrocera dorsalis* under β -cypermethrin stress. *Scientia Agricultura Sinica*, 48(19): 3857–3865 (in Chinese) [申光茂, 王晓娜, 黄勇, 豆威, 王进军. 2015. 橘小实蝇幼虫解毒酶系基因应对高

- 效氯氰菊酯胁迫的组织特异性表达. 中国农业科学, 48(19): 3857–3865]
- Sim SB, Calla B, Hall B, DeRego T, Geib SM. 2015. Reconstructing a comprehensive transcriptome assembly of a white-pupal translocated strain of the pest fruit fly *Bactrocera cucurbitae*. *GigaScience*, 4: 14
- Tariq K, Peng W, Saccone G, Zhang H. 2016. Identification, characterization and target gene analysis of testicular microRNAs in the oriental fruit fly *Bactrocera dorsalis*. *Insect Molecular Biology*, 25(1): 32–43
- Tian CB, Wei D, Xiao LF, Dou W, Liu H, Wang JJ. 2017. Comparative transcriptome analysis of three *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae) organs to identify functional genes in the male accessory glands and ejaculatory duct. *Florida Entomologist*, 100(1): 42–51
- Tian Y. 2015. Mining and function analysis of small heat shock protein genes in *Bactrocera dorsalis* based on transcriptome database. Master Thesis. Chongqing: Southwest University (in Chinese) [田怡. 2015. 基于转录组数据库的桔小实蝇 sHSP 基因的挖掘及功能分析. 硕士学位论文. 重庆: 西南大学]
- Wang J, Xiong KC, Liu YH. 2016. *De novo* transcriptome analysis of Chinese citrus fly, *Bactrocera minax* (Diptera: Tephritidae): by high-throughput illumina sequencing. *PLoS ONE*, 11(6): e0157656
- Wang LH. 2013. The transcriptome sequencing and diapause related gene-cloning research of *Bactrocera minax*. Master Thesis. Xinxian: Henan Institute of Science and Technology (in Chinese) [王刘豪. 2013. 柑橘大实蝇转录组测序和滞育相关基因克隆研究. 硕士学位论文. 新乡: 河南科技学院]
- Wang SP, Guo DH, Li F. 2016. The progress of genome and transcriptome analysis of *Bemisia tabaci* and its future perspectives. *Journal of Plant Protection*, 43(1): 18–23 (in Chinese) [王书平, 郭殿豪, 李飞. 2016. 烟粉虱基因组和转录组研究及展望. 植物保护学报, 43(1): 18–23]
- Wang YB, Zhang H, Li HC, Miao XX. 2011. Second-generation sequencing supply an effective way to screen RNAi targets in large scale for potential application in pest insect control. *PLoS ONE*, 6(4): e18644
- Wei D. 2015. Identification of reproductive proteins in male *Bactrocera dorsalis* based on omics' technologies. Ph. D Thesis. Chongqing: Southwest University (in Chinese) [魏冬. 2015. 基于组学技术的桔小实蝇雄性生殖蛋白鉴定. 博士学位论文. 重庆: 西南大学]
- Wei D, Li HM, Yang WJ, Wei DD, Dou W, Huang Y, Wang JJ. 2015. Transcriptome profiling of the testis reveals genes involved in spermatogenesis and marker discovery in the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis*. *Insect Molecular Biology*, 24(1): 41–57
- Wei D, Wang T, Dou W, Wang JJ. 2014. Biochemical and molecular characteristics of glutamic decarboxylase from *Bactrocera dorsalis*. *Scientia Agricultura Sinica*, 47(16): 3184–3194 (in Chinese) [魏冬, 王涛, 豆威, 王进军. 2014. 橘小实蝇谷氨酸脱羧酶的生化及分子特性. 中国农业科学, 47(16): 3184–3194]
- Wei DD, Shi JX, Zhang XX, Chen SC, Wei D, Wang JJ. 2014. Analysis of microsatellite loci from *Bactrocera dorsalis* based on transcriptome dataset. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 25(6): 1799–1805 (in Chinese) [魏丹丹, 石俊霞, 张夏瑄, 陈世春, 魏冬, 王进军. 2014. 基于转录组数据的桔小实蝇微卫星位点信息分析. 应用生态学报, 25(6): 1799–1805]
- Xue J. 2012. Discovery of insect specific sequences and noncoding RNA from transcriptome data. Master Thesis. Nanjing: Nanjing Agricultural University (in Chinese) [薛娟. 2012. 基于转录组数据的昆虫特异性序列及非编码 RNA 基因的发现. 硕士学位论文. 南京: 南京农业大学]
- Yang F, Huang LH, Zhang AB. 2014. High-throughput transcriptome sequencing technology and its applications in Lepidoptera. *Acta Entomologica Sinica*, 57(8): 991–1000 (in Chinese) [杨帆, 黄立华, 张爱兵. 2014. 高通量转录组测序技术及其在鳞翅目昆虫上的应用. 昆虫学报, 57(8): 991–1000]
- Yang WJ, Yuan GR, Cong L, Xie YF, Wang JJ. 2014. *De novo* cloning and annotation of genes associated with immunity, detoxification and energy metabolism from the fat body of the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis*. *PLoS ONE*, 9(4): e94470
- Yuan GR, Yang WJ, Xu KK, Wang JJ. 2016. Identification and expression profiling of nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 9$ subunit gene in *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae). *Acta Entomologica Sinica*, 59(11): 1189–1198 (in Chinese) [袁国瑞, 杨文佳, 许抗抗, 王进军. 2016. 橘小实蝇 nAChR $\alpha 9$ 亚基基因的鉴定及其时空表达. 昆虫学报, 59(11): 1189–1198]
- Zhang MC, Yin J, Cao YZ, Wu JX, Li KB. 2014. Transcriptome sequencing and its application in insect research. //Chen WQ. Academic Annual Conference of Botanical China Society of Plant Protection in 2014. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, pp. 120–127 (in Chinese) [张美翠, 尹姣, 曹雅忠, 仵均祥, 李克斌. 2014. 转录组测序及其在昆虫研究中的应用. //陈万权. 2014 年中国植物保护学会学术年会论文集. 北京: 中国农业科学技术出版社, pp. 120–127]
- Zhang YP, Zheng Y, Li DS, Fan YL. 2014. Transcriptomics and identification of the chemoreceptor superfamily of the pupal parasitoid of the oriental fruit fly, *Spalangia endius* Walker (Hymenoptera: Pteromalidae). *PLoS ONE*, 9(2): e87800
- Zhao JY, Zhao XT, Sun JT, Zou LF, Yang SX, Han X, Zhu WC, Yin Q, Hong XY. 2017. Transcriptome and proteome analyses reveal complex mechanisms of reproductive diapause in the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. *Insect Molecular Biology*, 26(2): 215–232
- Zheng WW, Luo DY, Wu FY, Wang JL, Zhang HY. 2016. RNA sequencing to characterize transcriptional changes of sexual maturation and mating in the female oriental fruit fly *Bactrocera dorsalis*. *BMC Genomics*, 17: 194
- Zheng WW, Peng T, He W, Zhang HY. 2012. High-throughput sequencing to reveal genes involved in reproduction and development in *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae). *PLoS ONE*, 7(5): e36463
- Zheng WW, Peng W, Zhu CP, Zhang Q, Saccone G, Zhang HY. 2013. Identification and expression profile analysis of odorant binding proteins in the oriental fruit fly *Bactrocera dorsalis*. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(7): 14936–14949

(责任编辑:李美娟)