

赵嘉庆, 陈 龙, 苏 娜, 等. 春尺蠖保幼激素酯酶基因 *AcinJHE* 生物信息与表达分析[J]. 江苏农业学报, 2025, 41(9): 1721-1728.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2025.09.007

# 春尺蠖保幼激素酯酶基因 *AcinJHE* 生物信息与表达分析

赵嘉庆<sup>1,2,3</sup>, 陈 龙<sup>1,2,3</sup>, 苏 娜<sup>4</sup>, 陈凯玥<sup>4</sup>

(1.河套学院农学系, 内蒙古 巴彦淖尔 015000; 2.河套地区绿色农产品安全生产与预警控制实验室, 内蒙古 巴彦淖尔 015000; 3.河套绿色农畜产品生产现代产业学院, 内蒙古 巴彦淖尔 015000; 4.内蒙古自治区林业和草原有害生物防治检疫总站, 内蒙古 呼和浩特 010051)

**摘要:** 为探究保幼激素酯酶(*JHE*)在春尺蠖(*Apocheima cinerarius*)生长发育及环境适应中的作用,本研究基于春尺蠖转录组数据,通过同源比对筛选并鉴定到1个*JHE*基因,命名为*AcinJHE*。该基因的CDS序列全长1 755 bp,编码的蛋白质包含590个氨基酸,预测蛋白质相对分子量为65 580,等电点为5.70,含有1条长度25 aa的信号肽,无跨膜结构,其羧酸酯酶保守结构域位于39~579 aa。系统进化分析结果表明,*AcinJHE*与冬尺蠖*JHE*亲缘关系最近,聚类于同一分支。从幼虫至非滞育蛹阶段,*AcinJHE*基因的相对表达量显著升高( $P < 0.05$ )。从滞育蛹至滞育解除蛹阶段,春尺蠖*AcinJHE*基因的相对表达量显著降低( $P < 0.05$ )。*AcinJHE*基因在雄成虫头中的相对表达量最高。*AcinJHE*基因响应低温和饥饿胁迫。4℃低温处理3 h后,春尺蠖3龄幼虫*AcinJHE*基因的相对表达量达到峰值,饥饿处理72 h,春尺蠖4龄幼虫*AcinJHE*基因的相对表达量显著高于对照( $P < 0.05$ )。本研究解析了*AcinJHE*基因在调控春尺蠖生长发育和逆境适应中的分子机制,为防治春尺蠖的危害提供了理论依据。

**关键词:** 春尺蠖; 保幼激素酯酶基因(*JHE*); 低温胁迫; 饥饿胁迫

中图分类号: S888.72<sup>+</sup>1 文献标识码: A 文章编号: 1000-4440(2025)09-1721-08

## Bioinformatics and expression analysis of juvenile hormone esterase gene *AcinJHE* from *Apocheima cinerarius*

ZHAO Jiaqing<sup>1,2,3</sup>, CHEN Long<sup>1,2,3</sup>, SU Na<sup>4</sup>, CHEN Kaiyue<sup>4</sup>

(1.Department of Agronomy, Hetao College, Bayannur 015000, China; 2.Hetao Regional Laboratory for Safe Production and Early Warning & Control of Green Agricultural Products, Bayannur 015000, China; 3.Hetao Modern Industry Institute of Green Agricultural and Livestock Products Production, Bayannur 015000, China; 4.Inner Mongolia Autonomous Region General Station of Forestry and Grassland Pest Control and Quarantine, Hohhot 010051, China)

**Abstract:** To investigate the role of juvenile hormone esterase (*JHE*) in the growth, development, and environmental adaptation of *Apocheima cinerarius*, this study screened and identified a *JHE* gene based on the transcriptomic data of *A. cinerarius* via homologous alignment, and named it *AcinJHE*. The CDS sequence of this gene was 1 755 bp in length,

收稿日期: 2025-06-13

基金项目: 内蒙古自然科学基金项目(2025LHMS03067, 2021BS03-028); “科技兴蒙”行动重点专项(NMKJXM202201); 巴彦淖尔市科技计划项目(NMKJXM202408)

作者简介: 赵嘉庆(2004-), 女, 内蒙古乌兰察布人, 本科, 主要从事昆虫生态与分子生物学研究。(E-mail) 2292345480@qq.com

通讯作者: 陈 龙, (E-mail) 15774711140@163.com

encoding a protein composed of 590 amino acids. The predicted relative molecular weight of the protein was 65 580, with an isoelectric point of 5.70. It contained a signal peptide of 25 aa in length, lacked transmembrane structures, and its carboxylesterase conserved domain was located at 39-579 aa. Phylogenetic analysis results showed that *AcinJHE* had the closest genetic relationship with the *JHE* of *Operophtera brumata*, clustering on the same

branch. From the larval stage to the non-diapause pupal stage, the relative expression level of *AcinJHE* increased significantly ( $P < 0.05$ ). From the diapause pupal stage to the diapause-terminated pupal stage, the relative expression level of *AcinJHE* in *A. cinerarius* decreased significantly ( $P < 0.05$ ). The relative expression level of *AcinJHE* was the highest in the heads of male adults. The *AcinJHE* gene responded to low-temperature and starvation stresses. After three hours of low-temperature treatment at 4 °C, the relative expression level of the *AcinJHE* gene in the 3rd-instar larvae of *A. cinerarius* reached the peak. After 72 hours of starvation treatment, the relative expression level of the *AcinJHE* gene in the 4th-instar larvae of *A. cinerarius* was significantly higher than that in the control group ( $P < 0.05$ ). This study elucidates the molecular mechanism of the *AcinJHE* gene in regulating the growth, development, and stress adaptation of *A. cinerarius*, thereby providing a theoretical basis for its control.

**Key words:** *Apocheima cinerarius*; juvenile hormone esterase (*JHE*); low temperature stress; starvation stress

春尺蠖 (*Apocheima cinerarius*) 属鳞翅目尺蛾科 (Geometridae), 是新疆、内蒙古、河北等北方地区荒漠草原及人工林区的主要杂食性害虫<sup>[1]</sup>。近年来, 其危害加剧, 寄主已从传统的柠条以及杨柳科、榆科和蔷薇科林木扩展至多种农作物, 发生危害区域也向南扩展<sup>[2-3]</sup>。春尺蠖幼虫的生长发育具有明显的龄期特异性, 其为害能力与龄期密切相关。1~2 龄低龄幼虫体壁薄弱, 抗逆能力差, 自然死亡率高达 60%<sup>[4]</sup>, 因此其早期危害有限。3 龄幼虫多出现于 4 月上旬, 其适应性与生存能力显著提升, 表现出较强的耐寒性, 可耐受剧烈温差波动。至 4 月中下旬, 幼虫发育至 4 龄, 进入暴食期, 每头幼虫日均摄食面积可达 440 mm<sup>2</sup>, 并且具有极强的耐饥饿能力<sup>[2,4-5]</sup>。因此, 春尺蠖的为害主要为 3 龄后幼虫。深入解析春尺蠖幼虫的生态适应性机制, 对于防治春尺蠖具有重要意义。

保幼激素 (JH) 是昆虫发育和生殖的关键激素, 其主要功能包括调控发育进程和翅型分化<sup>[6-7]</sup>、维持幼虫形态并抑制变态发育<sup>[8-9]</sup>、启动生殖程序促进卵母细胞成熟以及参与滞育生理调控<sup>[10-11]</sup>。保幼激素酯酶 (*JHE*) 是降解 JH 的关键羧酸酯酶, 通过降解 JH 以维持其动态平衡<sup>[9,12]</sup>, *JHE* 基因首次在烟草天蛾 (*Manduca sexta*) 中被成功克隆<sup>[13]</sup>, 随后在鞘翅目、鳞翅目、双翅目、半翅目及膜翅目等昆虫中完成基因鉴定和功能解析<sup>[14-17]</sup>。在七星瓢虫 (*Coccinella septempunctata*) 中, 通过转录组和 RACE 技术克隆得到 *JHE* 基因 cDNA 序列, 全长 2 317 bp, 其编码蛋白质含信号肽及酯酶保守基序, 为分泌型 *JHE*<sup>[18]</sup>。黄斑星天牛 (*Psacotheta hilaris*) 幼虫血淋巴 *JHE* 活性在预蛹期达到峰值, *JHE* 活性未能及时降低则会导致化蛹期延迟<sup>[19]</sup>。人为干预 (促进或抑制) *JHE* 活性可扰乱昆虫体内 JH 稳态, 导致其发育异常和生殖障碍, 最终影响昆虫生存和繁殖能力<sup>[20]</sup>。

本研究拟基于春尺蠖转录组鉴定其 *JHE* 基因, 并系统分析其时空表达模式, 以期揭示该基因在调控春尺蠖生长发育和逆境适应中的分子机制, 为害虫防治提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 昆虫采集及处理

2023 年冬季, 于内蒙古乌拉特前旗柠条草场 (40.77°N, 108.76°E) 采集春尺蠖越冬蛹, 在实验室进行饲养, 饲养条件为: 温度 (22±1) °C、光周期 18 h 光照/6 h 黑暗、相对湿度 55%~59%。待蛹羽化为成虫后, 将其配对, 饲喂柠条锦鸡儿, 收集虫卵。卵孵化后, 持续饲喂幼虫, 直至其化蛹。

### 1.2 试验处理

采集卵 30 枚, 1 龄幼虫 30 头, 2 龄幼虫 20 头, 3 龄幼虫 5 头, 4 龄幼虫 3 头, 5 龄幼虫 3 头, 蛹 3 只, 雌成虫 3 头, 雄成虫 3 头, 成虫头 30 个, 成虫胸 5 个, 成虫腹 5 个, 成虫前足、成虫中足、成虫后足合计 50 只, 雄虫翅膀 20 对。1~5 龄幼虫于蜕皮后 2 d 采集。化蛹 45 d 后, 4~6 °C 处理滞育蛹 60 d, 使蛹滞育解除。

分别用 -10 °C、-5 °C、0 °C、5 °C、25 °C 处理 3 龄幼虫 1 h, 然后分别置于 25 °C 下恢复 30 min。用 4 °C 低温处理 3 龄幼虫 0.5 h、1.0 h、3.0 h、5.0 h、7.0 h。4 龄幼虫进行饥饿处理 0 h、6 h、12 h、24 h、48 h、72 h。分别用 -5 °C、0 °C、5 °C、25 °C、30 °C 处理 4 龄幼虫 1 h。所有处理均设置 3 个生物学重复。

### 1.3 RNA 的提取及反转录

使用 RNA 提取试剂盒 TaKaRa MiniBEST Universal RNA Extraction Kit (TaKaRa 公司产品) 提取各样本总 RNA。利用反转录试剂盒 PrimeScript™ RT reagent Kit (Perfect Real Time) (TaKaRa 公司产品) 将 RNA 反转录成 cDNA。引物信息见表 1。

表 1 引物信息

Table 1 Primer information

引物名称	引物序列(5'→3')
<i>JHE</i> -F	ATGCCACCGACTTTTTACG
<i>JHE</i> -R	CCACTGGAACAAATGACGTG
<i>Actin</i> -F	CGACATCCGTAAGGACCTGT
<i>Actin</i> -R	TTCGAGATCCACATCTGCTG

#### 1.4 生物信息学分析

利用 NCBI ORF Finder (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>) 预测其编码区(CDS),利用 DNAMAN 6.0 软件进行多序列比对,利用 SignalP 5.0 (SignalIP 5.0: <http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>) 预测 N 端信号肽,利用 TMHMM 2.0 (TMHMM: <http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>) 预测跨膜结构域,利用 ExPASy ProtParam 工具 (ExPASy-ProtParam: <http://web.expasy.org/protparam/>) 分析蛋白质理化性质,利用 WoLF PSORT 对蛋白质进行亚细胞定位,利用 NetPhos 3.1 (NetPhos 3.1 Server: <https://services.healthtech.dtu.dk/services/NetPhos-3.1/>) 和 DictyOGlyc 1.1 (DictyOGlyc 1.1: <https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?DictyOGlyc-1.1>) 在线工具预测蛋白质磷酸化和糖基化位点,利用 MEGA 6.0 软件构建系统进化树。

#### 1.5 基因表达量测定

利用实时荧光定量 PCR 技术 (RT-qPCR) 检测春尺蠖保幼激素酯酶基因 (*AcinJHE*) 的表达水平,以 *Actin* 为内参基因。反应体系和反应程序参照 GoTaq<sup>®</sup> qPCR Master Mix 试剂盒 (Promega 公司产品) 说明书。

#### 1.6 数据处理

基因相对表达量利用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算<sup>[21]</sup>,利用 SPSS 27.0 软件进行单因素方差分析。利用 Tukey's HSD 法进行组间差异显著性分析。利用 GraphPad Prism 9.5 软件作图。以  $P < 0.05$  为差异显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 春尺蠖 *AcinJHE* 基因生物信息学

如图 1 所示,春尺蠖 *AcinJHE* 基因的 CDS 全长 1 755 bp,其编码蛋白质包含 590 个氨基酸,分子式为  $C_{2\ 939}H_{4\ 544}N_{802}O_{858}S_{23}$ ,相对分子量为 65 580,等电点为 5.7。JHE 蛋白 N 端存在 1 条含 25 个氨基酸 (MAERRLDMSDVLVLLICVSSAF) 的信号肽,但未预测到跨

膜结构域。39~579 位氨基酸包含羧酸酯酶家族保守结构域 RF、DQ、GxSxG、E、GxxHxxD,其 GxSxG 基序为 GHSCG。JHE 蛋白净电荷为 -11 (酸性氨基酸 Asp+Glu 总数为 69,碱性氨基酸 Arg+Lys 总数为 58),半衰期为 30 h,脂肪指数为 83.46,平均亲水性系数为 -0.177,不稳定系数为 53.80,属于不稳定蛋白。共预测到 40 个磷酸化位点,包括 18 个丝氨酸位点、8 个苏氨酸位点和 14 个酪氨酸位点,但未预测到糖基化位点。亚细胞定位预测结果显示,*JHE* 蛋白主要定位于细胞外。

将春尺蠖保幼激素酯酶 *AcinJHE* 蛋白氨基酸序列与其他鳞翅目昆虫进行比对。如图 2 所示,春尺蠖 *AcinJHE* 蛋白氨基酸序列与其他鳞翅目昆虫的总体一致性为 67.03%。*AcinJHE* 蛋白氨基酸序列与烟草天蛾 (*Manduca sexta*) *JHE* 蛋白氨基酸序列一致性最高,达 54.35%,其次为柞蚕 (*Antheraea pernyi*)、小地老虎 (*Agrotis ipsilon*)、家蚕 (*Bombyx mori*) 和苜蓿夜蛾 (*Heliothis virescens*) *JHE* 蛋白氨基酸序列。

如图 3 所示,尺蠖科的春尺蠖 *AcinJHE* 蛋白与尺蠖科的冬尺蠖 *OburJHE* 蛋白聚为一支,且分支支持度高,表明二者亲缘关系最近。同时,尺蠖科昆虫 *JHE* 蛋白与夜蛾科昆虫 [棉铃虫 (*Helicoverpa armigera*)、小地老虎 (*Agrotis ipsilon*)、黏虫 (*Mythimna separata*)] *JHE* 蛋白构成姊妹群,表明鳞翅目内尺蠖科昆虫与夜蛾科昆虫具有密切的亲缘关系。

### 2.2 *AcinJHE* 基因在春尺蠖不同发育阶段和不同组织中的表达

如图 4 所示,从卵至 5 龄幼虫阶段,春尺蠖 *AcinJHE* 基因相对表达量均较低。非滞育蛹、滞育蛹、雄成虫 *AcinJHE* 基因相对表达量显著高于其他发育阶段及雌成虫 ( $P < 0.05$ )。

如图 5 所示,*AcinJHE* 基因在雄成虫头中相对表达量显著高于雌成虫头 ( $P < 0.05$ )。雄成虫和雌成虫的胸、腹、足 *AcinJHE* 基因相对表达量均无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

### 2.3 低温胁迫下春尺蠖幼虫 *AcinJHE* 基因的表达

如图 6 所示,-10 °C、-5 °C 条件下,回温处理春尺蠖 3 龄幼虫 *AcinJHE* 基因的相对表达量显著低于不回温处理 ( $P < 0.05$ )。0 °C 条件下,回温处理春尺蠖 3 龄幼虫 *AcinJHE* 基因的相对表达量显著高于不回温处理 ( $P < 0.05$ )。5 °C、25 °C 条件下,回温处理春尺蠖 3 龄幼虫 *AcinJHE* 基因的相对表达量与不回温处理无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

ATGGCCGAGCGGGCTTAGACATGTCTGATTGGTGTAGTGTCTGATTGGCGTATCATCCGCGTTTGGCTCCGTAGCCTGTCCGCT  
 1 M A E R R L D M S D S V L V L L I C V S S A F A F R S L S P  
 GAAGAGTGCAGGTGCGCTTGCAGAACGGACCCGGTGTGGCGTGCCTGTGCGCATCGCCGAGCGCACGTACAAGTACCCAGCTTC  
 31 E E C E V R L R T D A G V A C G R V R I A E R T Y K Y A S F  
 CAGGGATTGCCGTACGGGAAACCACCCGTGGGCTCGAGGCGGTTTGGCGAGCTGGAACCACTGGATCCATGGGGTTACCTTTAGACGCG  
 61 Q G L P Y G K P P V G S R **RF** A E L E P V D P W G Y L L D A  
 ACGGAAGAAGGCCAGCGTGCCTCAGAAGGACCTGATCTACGGCGAATGACGTGGCAGCCGCGGGCAGAGCGAGGACTGCATCTAC  
 91 T E E G P A C P Q K D L I Y G R M T W Q P R G Q S E D C I Y  
 CTGAACCTCCACGTACCTTATTCACACTCCCTACGACTAAGCCTGTGCGCAACGAGACACAAGTCTGCCTATCGTGGTGTATCCAT  
 121 L N L H V P Y S H F P T T K P V G N E T Q V L P I V V M I H  
 GGAGGCGGGTTTCAAGCCGGATCCGGCTGACGGACGTGACGGACCCGACTACCTCATGACCACCGAGGCGGTGATTGTTATCACCTT  
 151 G G G F Q A G S G L T D V H G P D Y L M T T E A V I V I T L  
 AACTTCGAATCAATGTATTGCGCTTCTATCCTTGGGCACAGAAAGATCCCCGGTAACCAGGGGCTTCGCGACGTCTCCGCGGACTG  
 181 N F R I N V F G F L S L G T A K I P G N Q G L R **DV** L R G L  
 CGTGGGTGAAGCAAACGCGCGGCCTTCGGCGGTGACCCGACAACGTACCTCATAGGCACAGTTCGCGCGCTAGCATGGTGCAC  
 211 R W V K Q N A R A F G G D P D N V T L I **GHSCG** A S M V H  
 CTGCTGCACTTCCAAAGCTTCCAAAGGATTATTCATAGGATATTCATGATGAGCGCCATGCAATACCCATCTTCCACAAC  
 241 L L S L S K A S K G L F H R I F M M S G H A I P I F F T T N  
 CCTGAATTCGGAAGCAAATGCCACCGACTTTTTACGTATCTGGGCATCAACTCCACCGATCTAGACTACATTCATGAAACCTTACC  
 271 P E F A K Q I A T D F L R H L G I N S T D L D Y I H E T L T  
 AAGCTGCCACTGGGAACATCATGGAAGCAACAATATAATCCAATACGACTATGGGCTCACGTCAATTTGTTCCAGTGGAGGAGGGGTC  
 301 K L P L E N I M E A N N I I Q Y D Y G L T S F V P V E E G V  
 TACTCCGAGTCGAGACGGTTTGAATGCCAACCCATTCACCTCATGGCAAAGGAAGGGGCGCAATTTCCAATGCTCTTTGGGTAC  
 331 Y S G V E T V L N A N P L H L M A K G R G A Q F P M L F G Y  
 ACAGACAACGAGGTAGAATTTCAAATGGCTGGCCTACGTCTCACAGATTACGCAACGTCTAGAGAAGGATCCAAAATAATCTTGCCG  
 361 T D N E V E F F K W L A Y V S Q I T Q R L **E** K D P K L I L P  
 ATGCGGATCGTTTCAATATCCCAATGAGATCGAAGCCTTGGCGAATAGAACAGTCAACGTTGTTCCGAGGAGACTACAGCATGGAC  
 391 M R I V Y Q Y P N E I E A L A N R T V E R C F R G D Y S M D  
 AACTTTGTCAACTGTACTCTTATCTGTTCTTCAAATATCCGATATTAAGATTGCCGAGTGGAGAGGACTGGGCGGAGCCCGGCTTAC  
 421 N F V N C Y S Y L F F K Y P I L K I A E W R G L G G A P A Y  
 TTATACAGTACTCGTATGAGAGCAAGCGTAGTATCATCAAAGAAGCCTGTGATAACGTACAGAGCGCAGCGCATTTGGAGGACCTT  
 451 L Y R Y S Y E S K R S I I K E A L S I T Y R **GAAHLED** L  
 ACTTTTATCTTCGCACCAACTCAATGATGGGGACTACGTCTCTTTTCTCCGAAGGGCAGCAGCATCTCAAGCAGTGGTGGGTG  
 481 T F I F R T N S M M G D Y V S F P P K G D D D L M K Q W W V  
 AAGATCGTACCAATTTGTGAAATGCGATAACCCTACATGCAAAAAAGACGAGCGGAATGGCTCCAGTAAACGGAGACAAGTTGCAG  
 511 K I V T N F V K C D N P T C K K D E A E W P P V N G D K L Q  
 TACCAGGATATCAAGCCGATGGAATTCAGCATGAAGGGAGTAGACGCAGATGAAAACGACTGGCTACGGTACTACGAAGGGGTGGAC  
 541 Y Q D I S K P M E F S M K G V D A D E N D W L R Y Y E G V D  
 GAGGAAGTCAGAAATGTCGCTGCTGAGCTGAAAAACATTTATAG  
 571 E E V R N V A A E L K K H L \*

灰色部分为羧酸酯酶家族保守结构域。

图 1 春尺蠖保幼激素酯酶基因 (*AcinJHE*) 碱基序列及其编码的蛋白质氨基酸序列

Fig.1 The sequence of juvenile hormone esterase gene (*AcinJHE*) and the amino acid sequence of its encoded protein in *Apocheima cinerarius*

如图 7 所示,4 °C 条件下,春尺蠖 3 龄幼虫 *AcinJHE* 基因的相对表达量随低温处理时间的延长总体呈先升高后降低的趋势,4 °C 处理 3 h 春尺蠖 3 龄幼虫 *AcinJHE* 基因的相对表达量达到最大值,显著高于其他处理时长 3 龄幼虫 *AcinJHE* 基因的相对表达量 ( $P < 0.05$ )。

如图 8 所示,春尺蠖 4 龄幼虫 *AcinJHE* 基因在 25 °C 条件下相对表达量最高,在 -5 °C 和 5 °C 条件下相对表达量最低。

#### 2.4 饥饿胁迫下春尺蠖 4 龄幼虫 *AcinJHE* 基因的表达

如图 9 所示,饥饿处理 72 h 春尺蠖 4 龄幼虫 *AcinJHE* 基因的相对表达量显著高于对照 ( $P <$

0.05)。其他饥饿处理时间春尺蠖 4 龄幼虫 *AcinJHE* 基因的相对表达量与对照无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

### 3 讨论与结论

本研究鉴定到 1 个编码春尺蠖保幼激素酯酶 (*JHE*) 的基因 *AcinJHE*。序列分析结果表明,该序列全长 1 755 个碱基,编码 590 个氨基酸。春尺蠖的 *JHE* 蛋白氨基酸序列与冬尺蠖的 *JHE* 蛋白氨基酸序列在进化树上聚类于同一分支,亲缘关系最近。*JHE* 蛋白典型结构域包括 RF、DQ、GxSxG、E、Gxx-HxxD、GxSxG 基序为 GQSAG<sup>[12,22-23]</sup>,*AcinJHE* 蛋白具 RF、DQ、GxSxG、E、GxxHxxD 4 个结构域,其 Gx-

AperJHE	.....MARSFATTFALLIIVINVNATPKFESCNVVARIESCWVCGLTRWAFAGTIYASFRGVFYAKCFIAELRFKELCFHIFCEYYID	83
MsexJHE	.....MΔARRLVCVYVIALICVSEI.SARIPSTEEVVVRTESGWIRGLKRRAFGNKSYASFRGVFYAKCFILGELRFKELCFHIFWCCELD	84
BmorJHE	...MCTKFAVLLIYVTVGLVVRAYSSPAASPFSSCNVACTESCWVCCRSRRAFASTIYASFRGVFYAKCFVGEIRFKELCFHIFWITGYLD	87
AypsJHE	.....MTTYWTALAFVLHACTALASP.FECCSVAMNTTSLVCCVIRYAFGVF.YASFRGVFYAKCFVGEIRFKELCFHIFWIPWD.VLY	79
HvirJHE	.....MTTYVFAI AFLI HACTAI AWFGAASC.SVRAELLSCTVCCVGRSVFC.SK.YASFRGVFYAKCFILGELRFKELCFHIFWIPWD.VLO	80
AcinJHE	MSARSKI.GAGVAVVAALAAACVVALFEERYTHACEVRACTLACWCCGRSRAWEGGAM.YASBRAVVEFYAKCFILGELRFKELCFHIFWPHHLLD	90
AperJHE	ATEEGFVYCFQIDVLYGRIMRFKG..FSEACTHANTHVPYALFRCFPNF.....LIDRYWGSSTCTICIPIIIVFTHGGGFHAFCSGCA	163
MsexJHE	ATCEGFVYCCQIDVLYGRIMRFERG..MSEACTHANTHVPYALFRCATD.....KNRFAGI.EVIIVFTHGGGFHAFCSGCS	155
BmorJHE	ATEEGFVYCYQIDVLYGSIIMKPHG..MNFACYTANTHVPYALFAAGET.....PTKFCIPIIIVFTHGGGFHAFCSGCA	157
AypsJHE	ATEEGFVYCFQIDVLYGSIIMKPHG..MNFACYTANTHVPYALFAAGET.....PTKFCIPIIIVFTHGGGFHAFCSGCA	163
HvirJHE	ATEEGFVYCFQIDVLYGSIIMKPHG..MNFACYTANTHVPYALFAAGET.....PTKFCIPIIIVFTHGGGFHAFCSGCA	166
AcinJHE	ATEEGFVYCYQENVVYGRIMCFRA..FSEACTHANTHVPYALFRCFPNF.....LIDRYWGSSTCTICIPIIIVFTHGGGFHAFCSGCDP	178
AperJHE	DLHGPEYLVSRKIVITFNRYRINVLGFLSLNSTSIFCNGLRDMVTILFRWGRNARAFGGNFDLVTIMCCSAGASSAHMIVMSEARG..	251
MsexJHE	DLHGPEYLVSKKIVITFNRYRINVYGLSLNSTSVFCNAGLRDMVTILKVVGRNARAFGGNFDLVTIMCCSAGASSAHMIVMSEARG..	243
BmorJHE	DLHGPEYLVTRNVVITFNRYRINVEGFLSNNTFKIFCNAGLRDMVTILNWWGRNARAFGGNFDLVTIMCCSAGASSAHMIVMSEARG..	245
AypsJHE	DLHGPEYLVSRKIVITFNRYRINVEGFLSNNTFKIFCNAGLRDMVTILNWWGRNARAFGGNFDLVTIMCCSAGASSAHMIVMSEARG..	253
HvirJHE	DLHGPEYLVSRKIVITFNRYRINVEGFLSNNTFKIFCNAGLRDMVTILNWWGRNARAFGGNFDLVTIMCCSAGASSAHMIVMSEARG..	254
AcinJHE	DLHGPEYLVTKNVVITFNRYRINVEGFLSLNSEFEVFCNGLRDMVTILFRWGRNARAFGGNFDLVTIMCCSAGASSAHMIVMSEARG..	266
AperJHE	IFKRATILMSGNIPFFHTASFAYSCTTKLFLSLVCLTSTDEE.VHCKIEMPTKITEANNVLLDCEGITTTFVVEVTFKFGITITIE	340
MsexJHE	IFKRATILMSGTSSAFETTNEVFACYINKLFTVNMGITATDEE.IHCKIEMPAEKINNEANRFLLECGLITTFVVEVTFKFGITITIE	332
BmorJHE	IFKRATILMSGACTSTFSTTSIFSCSINKLIFSLI.GVNSTINDEE.IHEKIVAMVEKINNEANRILIDCGITITTFVVEVTFKFGITITIE	334
AypsJHE	IFKRATILMSGTAASTFYSEFAFACFMKCLITLIGITATDEE.TYRCLTALDAEKIKTANETILNENTITTFVVEVTFKFGITITIE	342
HvirJHE	IFKRATILMSGTGISFFYSSFAFAAYMSKCLILVIGITATDEE.THCCTICI.PAFKINLNTAFILFCIGITTFVVEVTFKFGITITIE	343
AcinJHE	LYKRAELMSGIGISGFYSSFLFAQCLSTMFLITLGINATDEAACVHRQLICLVEKINLNEANRILINCEGITITTFVVEVTFKFGITITIE	356
AperJHE	DEPEVLFAKGRGKIPILLIGFTNSECFTRRRRVECCILISRIKGNFSCIVFVNTIFSNTPCLVCLISKRICRYFNGTINIEKYINLQSD	430
MsexJHE	DEPEELIAKGRGKHPILLIGFTTCAEGETRRRFECCILIVSKTKENFGLIVLISVLFSSAPETVAEITKAMHVEYFNSVDMEGYIEICD	422
BmorJHE	DEPNILVCCGRKCLPILLIGFTNSECFHMECRRECECLIVSKINENFAILLVSNLILYSSTLETIALVSNCLISCRYSNGSGLIEGFINMCD	424
AypsJHE	DEPEELISNGRGNIPILLIGYATAEGETRRRLEKFEIVKLIKONFTLIVFPKILFTTTPPKFLICLAKKICROYHNGTINLNEFVKTCSD	432
HvirJHE	DEPEELIAKGRGKIPILLIGFTNSECFTRRRRVECCILISRIKGNFSCIVFVNTIFSNTPCLVCLISKRICRYFNGTINIEKYINLQSD	433
AcinJHE	DEPEVSVAKGRGKIPILLIGFTNSECFTRRRRVECCILINIASKIDNEVLSVANIIFTTLPPELLICLAKKICROYHNGTINLNEFVKTCSD	446
AperJHE	SFYFVYALRIAEKRAEAGIAFVFLYKHSYDGENSVFKVVDLIFKFGAGHIEELTYVFRVNSILEKHFYSPERNRDCMRYVWVIMVTFNFM	520
MsexJHE	SFYFVYATSTATKRAASNGAFVYIYORSFDCYVSFVREVNHTNFRGAGHIEELTYVFRVNSMIGHASFPFHEKDCMRYVWVIMVTFNFM	512
BmorJHE	SYKYVAVKIAEKRAEAGIAFVFLYKHSYDGENSVFKVVDLIFKFGAGHIEELTYVFRVNSILEKHFYSPERNRDCMRYVWVIMVTFNFM	510
AypsJHE	GYEYVYALRIAEKRAEAGIAFVFLYKHSYDGENSVFKVVDLIFKFGAGHIEELTYVFRVNSILEKHFYSPERNRDCMRYVWVIMVTFNFM	522
HvirJHE	GYEYVYALRIAEKRAEAGIAFVFLYKHSYDGENSVFKVVDLIFKFGAGHIEELTYVFRVNSILEKHFYSPERNRDCMRYVWVIMVTFNFM	523
AcinJHE	GYQYVYALRIAEKRAEAGIAFVFLYKHSYDGENSVFKVVDLIFKFGAGHIEELTYVFRVNSILEKHFYSPERNRDCMRYVWVIMVTFNFM	536
AperJHE	KQSDVFCSENSSWFAVNFNK.IGYCHTCTFNVCYCTEIKDEMSVKHFFDSFCNKENVYNGVK	581
MsexJHE	KYSNVEVT.CAKLWPEVRADN.IRYCDITCTFCVYCNVKNPHSECRDMLDFDSTYNNWNGTSYCI	572
BmorJHE	ROSAFMCDETTAWPFVTPRE.ICYCDITCTFNVCYCTEIKDEMSVKHFFDSFCNKENVYNGVK	570
AypsJHE	AGSKFICEE..FYSLWFANNQNCVEDILSFTMICSKELESFRCREVVDFYDLSARSKGLT...	579
HvirJHE	TQSKFICEE..FYSLWFANNQNCVEDILSFTMICSKELESFRCREVVDFYDLSARSKGLT...	581
AcinJHE	QQSEFVCCGRSSWPFVCFERH.IQLCDICEFAVYRHRRLTKKEREIMLFFDLSLRCK.....	590

AcinJHE:春尺蠖 (*Apocheima cinerarius*) *JHE* 蛋白氨基酸序列 (PV747194); AperJHE:柞蚕 (*Antheraea pernyi*) *JHE* 蛋白氨基酸序列 (UTQ10528.1); MsexJHE:烟草天蛾 (*Manduca sexta*) *JHE* 蛋白氨基酸序列 (XP\_030033511.1); BmorJHE:家蚕 (*Bombyx mori*) *JHE* 蛋白氨基酸序列 (AAR37335.1); AypsJHE:小地老虎 (*Agrotis ypsilon*) *JHE* 蛋白氨基酸序列 (XFF06359.1); HvirJHE:苜蓿夜蛾 (*Heliothis virescens*) *JHE* 蛋白氨基酸序列 (AGB93712.1)。

图2 春尺蠖 *AcinJHE* 蛋白氨基酸序列与其他昆虫 *JHE* 蛋白氨基酸序列比对

Fig.2 Amino acid sequence alignment of *AcinJHE* protein from *Apocheima cinerarius* with *JHE* proteins from other insect species

SxG 基序为 GHSCG,第2、4位发生氨基酸突变。在小麦吸浆虫 (*Sitotiplosis mosellana*)<sup>[24]</sup>、烟粉虱 (*Bemisia tabaci*)<sup>[25]</sup> *JHE* 蛋白结构域中 GxSxG 第2位氨基酸发生了突变。表明不同物种 *JHE* 功能存在差异<sup>[26]</sup>。

保幼激素通过抑制蜕皮激素信号通路维持昆虫的幼虫状态<sup>[27]</sup>。本研究发现,在春尺蠖卵至5龄幼

虫阶段, *AcinJHE* 基因的相对表达量均较低,因为该阶段春尺蠖卵及幼虫体内需要维持较高的保幼激素 (JH) 含量。在非滞育蛹和滞育蛹阶段, *AcinJHE* 基因的相对表达量显著升高, *AcinJHE* 分解幼虫阶段体内积累的 JH。滞育解除蛹阶段,春尺蠖 *AcinJHE* 基因的相对表达量显著降低。朱圣杰等<sup>[28]</sup>发现,在滞育蛹阶段至滞育解除蛹阶段,春尺蠖保幼激素结

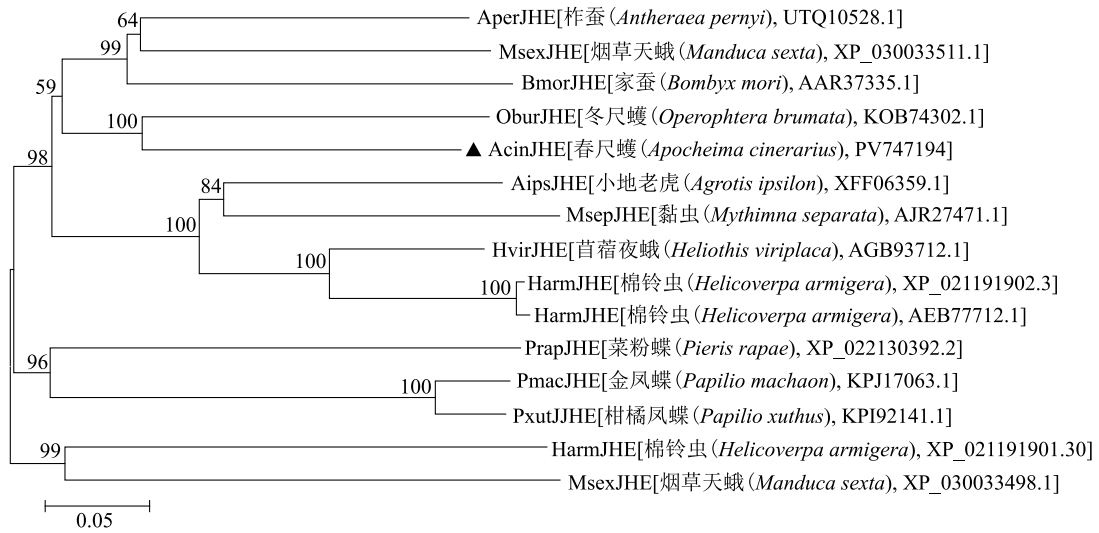
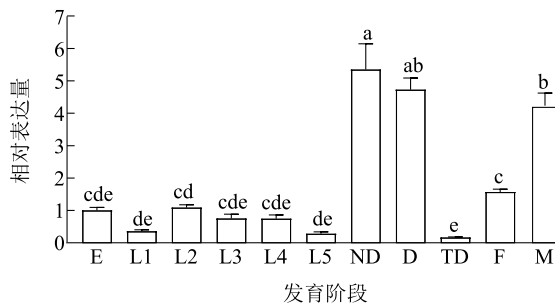


图 3 春尺蠖 *AcinJHE* 蛋白氨基酸序列与其他昆虫 *JHE* 蛋白氨基酸序列系统发育树

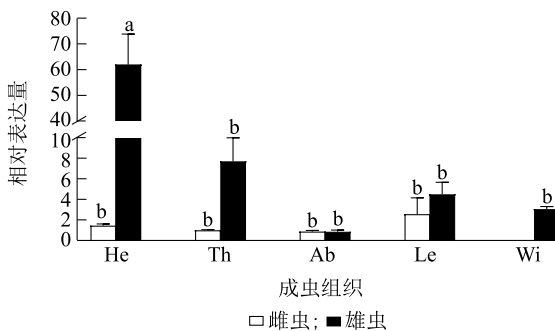
Fig.3 Phylogenetic tree based on amino acid sequences of *AcinJHE* protein from *Apocheima cinerarius* and *JHE* proteins from other insects



E:卵;L1~L5:1龄~5龄幼虫;ND:非滞育蛹;D:滞育蛹;TD:滞育解除蛹;F:雌成虫;M:雄成虫。图柱上不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

图 4 春尺蠖 *AcinJHE* 基因在不同发育阶段的表达

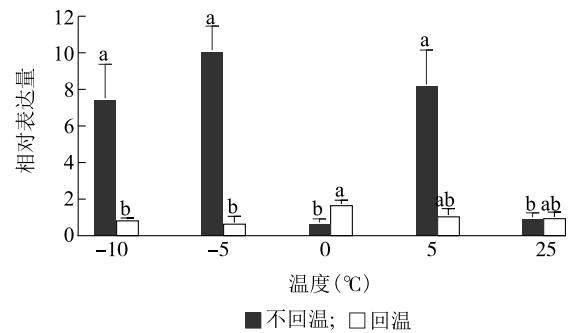
Fig.4 Expression of the *AcinJHE* gene in *Apocheima cinerarius* at different developmental stages



He:头;Th:胸;Ab:腹;Le:足;Wi:翅膀。图柱上不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

图 5 春尺蠖 *AcinJHE* 基因在不同组织中的表达

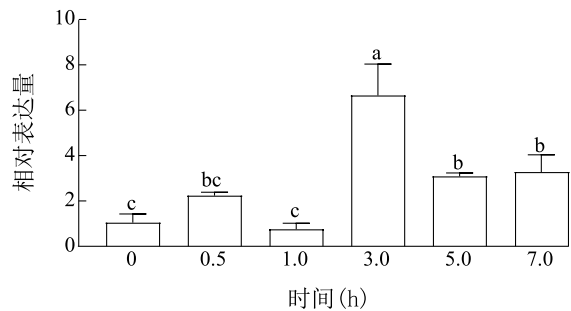
Fig.5 Expression of the *AcinJHE* gene in different tissues of *Apocheima cinerarius*



图柱上不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

图 6 春尺蠖 3 龄幼虫 *AcinJHE* 基因在不同温度下的表达

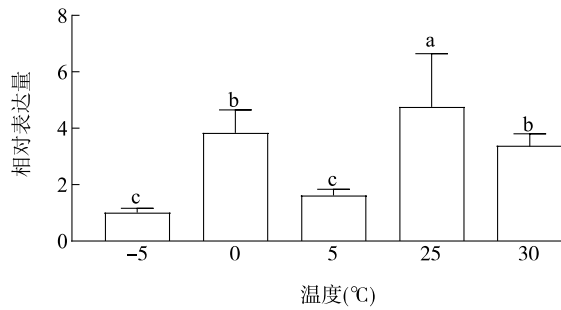
Fig.6 Expression of the *AcinJHE* gene in the 3rd-instar larvae of *Apocheima cinerarius* under different temperature conditions



图柱上不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

图 7 春尺蠖 3 龄幼虫 *AcinJHE* 基因在 4 °C 时不同处理时间下的表达

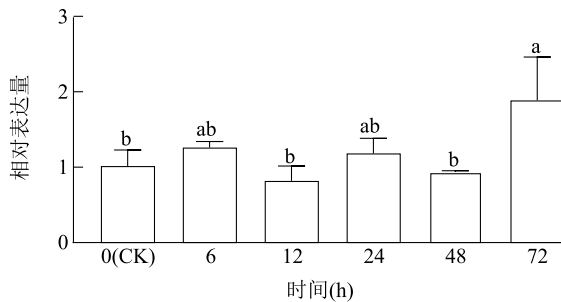
Fig.7 Expression of the *AcinJHE* gene in the 3rd-instar larvae of *Apocheima cinerarius* under 4 °C treatment at different durations



图柱上不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

图8 春尺蠖4龄幼虫 *AcinJHE* 基因在不同温度下的表达

Fig.8 Expression of the *AcinJHE* gene in the 4th-instar larvae of *Apocheima cinerarius* under different temperature conditions



图柱上不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

图9 春尺蠖4龄幼虫 *AcinJHE* 基因在不同饥饿处理时间下的表达

Fig.9 Expression of the *AcinJHE* gene in the 4th-instar larvae of *Apocheima cinerarius* under different starvation durations

合蛋白(JHBP)基因 *AcinJHBP* 的相对表达量呈降低趋势,与本研究结论相似。小麦吸浆虫雄虫 *SmJHE* 基因的相对表达量显著高于雌虫<sup>[29]</sup>,本研究也发现,春尺蠖雄虫 *AcinJHE* 基因的相对表达量显著高于雌虫,表明春尺蠖 *AcinJHE* 基因可能参与春尺蠖生殖调控。

营养胁迫影响昆虫发育进程。长日照条件下,营养不足可诱导幼虫超龄蜕皮<sup>[30]</sup>,而完全饥饿则会干扰正常蜕皮进程<sup>[10]</sup>。本研究中,对春尺蠖4龄幼虫进行72 h饥饿处理,*AcinJHE* 基因的相对表达量达到峰值,表明长期饥饿通过促进 *AcinJHE* 基因的表达,显著降低保幼激素(JH)浓度<sup>[31]</sup>,从而打破激素平衡,诱发春尺蠖提前化蛹。

温度对昆虫生长发育起着至关重要的作用,可

引起昆虫滞育,延缓幼虫和蛹的发育进度<sup>[32-35]</sup>。本研究发现,在4℃低温胁迫下,3龄幼虫 *AcinJHE* 基因的表达量随低温胁迫时间的延长总体呈先上升后下降的变化趋势。这一表达模式揭示了春尺蠖幼虫应对低温胁迫的快速响应机制:短期(3.0 h)低温可能通过激活 *JHE* 基因表达,加速保幼激素(JH)降解,从而抑制发育进程并增强春尺蠖抗寒能力,符合昆虫冷休克初期通过降低JH以节省能量的保守策略<sup>[36]</sup>。与低温处理3.0 h相比,低温处理5.0 h,春尺蠖 *AcinJHE* 基因的相对表达量显著下降,表明其通过维持较低水平的 *JHE* 以保留一定JH浓度,避免生长发育受到过度抑制<sup>[37-38]</sup>。

上述结果表明,*AcinJHE* 基因在春尺蠖生长发育、滞育调节及环境适应中具有重要功能。本研究结果为深入揭示 *AcinJHE* 基因在春尺蠖激素平衡与胁迫响应中的调控机制奠定了基础。后续可以进一步探究 *AcinJHE* 基因对生物胁迫的响应及其转录与翻译水平的协同调控作用,以期系统阐明该基因的分子调控网络。

#### 参考文献:

- [1] 王雨,斯琴,王秀梅,等.天然胡杨林春尺蠖飞防存在的问题及解决措施[J].北京林业大学学报,2024,46(4):113-119.
- [2] 庞竟公,何稳稳,曹玉,等.重要林木害虫春尺蠖研究进展[J].农业科学,2018,8(5):461-467.
- [3] DING W C, LI H Y, WEN J B. Climate change impacts on the potential distribution of *Apocheima cinerarius* (Erschoff) (Lepidoptera: Geometridae) [J]. *Insects*, 2022, 13:59.
- [4] 卿薇,阿地力·沙塔尔,闫文兵.春尺蠖生物学特性研究[J].应用昆虫学报,2016,53(1):174-184.
- [5] 陈龙,娜仁格日乐,戴桂香,等.春尺蠖海藻糖转运蛋白基因 *AcinTret1* 和 *AcinTret1-like* 的克隆、分子特性与表达分析[J].江苏农业科学,2022,50(10):23-30.
- [6] AYOADE O, MOROOKA S, TOJO S. Enhancement of short wing formation and ovarian growth in the genetically defined macropterous strain of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* [J]. *Journal of Insect Physiology*, 1999, 45(1):93-100.
- [7] ZHAO J, ZHOU Y L, LI X, et al. Silencing of juvenile hormone epoxide hydrolase gene (*Nljeh*) enhances short wing formation in a macropterous strain of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* [J]. *Journal of Insect Physiology*, 2017, 102:18-26.
- [8] RIDDIFORD L M, TRUMAN J W, MIRTH C K, et al. A role for juvenile hormone in the prepupal development of *Drosophila melanogaster* [J]. *Development*, 2010, 137(7):1117-1126.
- [9] JINDRA M, PALLI S R, RIDDIFORD L M. The juvenile hormone signaling pathway in insect development [J]. *Annual Review of*

- Entomology, 2013, 58:181-204.
- [10] RIDDIFORD L M. How does juvenile hormone control insect metamorphosis and reproduction? [J]. General and Comparative Endocrinology, 2012, 179(3):477-484.
- [11] ROY S, SAHA T T, ZOU Z, et al. Regulatory pathways controlling female insect reproduction[J]. Annual Review of Entomology, 2018, 63:489-511.
- [12] KAMITA S G, HAMMOCK B D. Juvenile hormone esterase: biochemistry and structure[J]. Journal of Pesticide Science, 2010, 35(3):265-274.
- [13] NIU D, ZHENG H C, CORONA M, et al. Transcriptome comparison between inactivated and activated ovaries of the honey bee *Apis mellifera* L.[J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2014, 23(5):668-681.
- [14] VERA J C, WHEAT C W, FESCEMYER H W, et al. Rapid transcriptome characterization for a nonmodel organism using 454 pyrosequencing[J]. Molecular Ecology, 2008, 17(7):1636-1647.
- [15] LIU S H, YANG B J, GU J H, et al. Molecular cloning and characterization of a juvenile hormone esterase gene from brown planthopper, *Nilaparvata lugens* [J]. Journal of Insect Physiology, 2008, 54(12):1495-1502.
- [16] CHOI J H, KIJIMOTO T, SNELL-ROOD E, et al. Gene discovery in the homed beetle *Onthophagus taurus* [J]. BMC Genomics, 2010, 11(1):1-19.
- [17] CHEN E H, WEI D D, SHEN G M, et al. De novo characterization of the *Dialeurodes citri* transcriptome; mining genes involved in stress resistance and simple sequence repeats (SSRs) discovery [J]. Insect Molecular Biology, 2014, 23:52-66.
- [18] 齐晓阳. 七星瓢虫比较转录组测序及滞育关联基因的克隆与初步分析[D]. 福州:福建农林大学, 2016.
- [19] LI H C, ZHANG H, GUAN R B, et al. Identification of differential expression genes associated with host selection and adaptation between two sibling insect species by transcriptional profile analysis [J]. BMC Genomics, 2013, 14(14):489-490.
- [20] HAMMOCK B D, BONNING B C, POSSEE R D, et al. Expression and effects of the juvenile hormone esterase in a baculovirus vector[J]. Nature, 1990, 344(6265):458-461.
- [21] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-ΔΔC<sub>T</sub></sup> method[J]. Methods, 2001, 25(4):402-408.
- [22] ZHU L, YIN T Y, SUN D, et al. Juvenile hormone regulates the differential expression of putative juvenile hormone esterases via methoprene-tolerant in non-diapausedestined and diapause-destined adult female beetle[J]. Gene, 2017, 627:373-378.
- [23] WARD V K, BONNING B C, HUANG T, et al. Analysis of the catalytic mechanism of juvenile hormone esterase by site-directed mutagenesis[J]. The International Journal of Biochemistry, 1992, 24(12):1933-1941.
- [24] 王晶晶, 梁婷婷, 成卫宁, 等. 小麦吸浆虫保幼激素酯酶和保幼激素环氧水解酶基因的克隆及在滞育和变态发育过程中的表达动态[J]. 昆虫学报, 2020, 63(4):401-412.
- [25] 龙楚云, 郭建洋, 万方浩. 烟粉虱 MED 隐种保幼激素酯酶 cDNA 片段克隆、序列分析及在不同发育阶段的表达[J]. 昆虫学报, 2013, 56(3):234-242.
- [26] MACKERT A, DO NASCIMENTO A M, BITONDI M M G, et al. Identification of a juvenile hormone esterase-like gene in the honey bee, *Apis mellifera* L.—Expression analysis and functional assays[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 2008, 150(1):33-44.
- [27] 闫丽琼, 汤方, 龚尚骞, 等. 舞毒蛾保幼激素结合蛋白家族基因克隆及对 CO<sub>2</sub> 胁迫的响应[J]. 环境昆虫学报, 2019, 41(6):1339-1347.
- [28] 朱圣杰, 崔阔澍, 白松林, 等. 春尺蠖保幼激素结合蛋白 *Acin-JHBP* 基因的克隆、分子特征与表达分析[J]. 西南农业学报, 2024, 37(7):1538-1544.
- [29] CHENG W N, LI X J, ZHAO J J, et al. Cloning and characterization of methoprene-tolerant (Met) and Krüppel homolog1 (Kr-h1) genes in the wheat blossom midge, *Sitodiplosis mosellana* [J]. Insect Science, 2020, 27(2):292-303.
- [30] KADONO-OKUDA K, 戴玉锦. 对家蚕饥饿幼虫应用保幼激素类似物诱导完好超龄幼虫[J]. 国外农学——蚕业, 1988(4):23-28.
- [31] HIDAYAT P, ASHARI F, WULANDARI S. Starvation-induced upregulation of juvenile hormone esterase mediates precocious metamorphosis in *Spodoptera litura* [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2021, 135:103602.
- [32] 周红艳. 温度和激素对柑橘大实蝇发育的影响[D]. 重庆:西南大学, 2013.
- [33] 王宗舜. 昆虫滞育与激素调节[J]. 昆虫知识, 1985(4):40-42.
- [34] 李玉艳, 张礼生, 陈红印. 茧蜂滞育的研究进展[J]. 昆虫学报, 2010, 53(10):1167-1178.
- [35] LAI R Q, BAI J J, GU G, et al. Juveniles on aphids to prolong optimal stages [J]. Entomological Research, 2021, 51(3):133-142.
- [36] MACMILLAN H A, FERGUSON L V, NICOLAI A, et al. Parallel ionoregulatory adjustments underlie phenotypic plasticity and evolution of *Drosophila* cold tolerance[J]. Journal of Experimental Biology, 2016, 219(7):980-994.
- [37] MACMILLAN H A, SINCLAIR B J. Mechanisms underlying insect chill-coma[J]. Journal of Insect Physiology, 2011, 57(1):12-20.
- [38] DENLINGER D L, YOCUM G D, RINEHART J P. Hormonal control of diapause[J]. Insect Endocrinology, 2012, 8:430-463.

(责任编辑:成纾寒)