

基于转录组测序的蜕皮激素对粘虫生殖的影响分析

庞 博, 雷雪萍

(西藏自治区农牧科学院农业研究所, 西藏 拉萨 850032)

摘要: 为了解蜕皮激素对粘虫 *Mythimna separate* (Walker) 生殖的影响以及转录组中功能基因的表达, 采用 RNA-Seq 技术, 对西藏自治区林芝市下察隅县玉米上的粘虫注射蜕皮激素 (20-Hydroxyecdysone, 20E), 分析其对粘虫生殖的影响。结果显示: 外源性蜕皮激素处理的粘虫产卵量相较于未作处理的粘虫显著减少; 从转录组的结果推测对粘虫成虫补充外源性蜕皮激素可能抑制了 JH 合成通路的酶的转录水平进而使得 JH 滴度降低, 最终导致粘虫成虫产卵量降低, 证实注射外源性蜕皮激素可导致粘虫产卵量显著下降从而抑制粘虫的正常生殖。

关键词: 粘虫; 蜕皮激素; RNA-Seq 技术

中图分类号: S435

文献标识码: A

Effect of Ecdysteroids on Reproduction of *Mythimna separate* (Walker) Based on Transcriptome Sequencing

PANG Bo, LEI Xueping

(Institute of Agricultural Sciences, Xizang Academy of Agriculture and Animal Husbandry Sciences, Lhasa Xizang 850032, China)

Abstract: The study aimed to understand the effect of ecdysone on the reproductive capabilities of *Mythimna separate* (Walker) and the expression of essential genes in the transcriptome. Researchers employed RNA-Seq technology to examine the impact of 20-Hydroxyecdysone (20E) on reproduction of *Mythimna separate* (Walker) on maize crops in Xiachayu County, Linzhi City, Xizang Autonomous Region. The result analysis shows that: The egg production of sticky worms treated with exogenous ecdysone is significantly reduced compared to untreated sticky worms. Based on the transcriptome results, it is speculated that exogenous supplementation of 20E to adult armyworm may inhibit the transcriptional level of enzymes involved in JH synthesis pathway, leading to a decrease in JH titer and ultimately resulting in a decrease in egg production of armyworm adults. This study confirms that injection of exogenous ecdysone can significantly reduce the egg production of sticky worms, thereby inhibiting their normal reproduction.

Key words: *Mythimna separate* (Walker); ecdysteroids; RNA-Seq technology

粘虫 *Mythimna separate* (Walker) 是一种在我国农作物上普遍发生并且危害严重的害虫。随着西藏的青稞和玉米种植面积逐年增加、种植范围不断扩大, 粘虫的发生也越来越频繁。2019 年昌都市芒康地区出现了小范围的暴发, 2020 年在西藏主栽作物青稞上出现了大面积暴发。目前拉萨、林芝、山南、日喀则、阿里、昌都等地区的青稞、玉米上均有粘虫发生, 并且一些地

区还与入侵生物草地贪夜蛾同时发生。粘虫具有受害作物范围广、产量损失重等特点^[1]。近年来我国农作物种植结构和耕作栽培制度等都在发生变化, 粘虫的抗药性也在不断增强^[2-3]。西藏作为我国重要的生态安全屏障区, 为了应对粘虫危害加重的趋势, 需要加快环境友好型特异性靶标生物农药的研发。

昆虫内分泌的生长调控物质(蜕皮素)主要

收稿日期: 2024-11-12

基金项目: 西藏自治区自然科学基金项目(XZ2019ZRG-101); 西藏自治区重点研发计划项目(XZ202401ZY0034)。

作者简介: 庞博(1986—), 男, 副研究员, 主要从事植物保护研究, E-mail: 767742515@qq.com。

负责推动昆虫的脱皮与形态转变,当蜕皮素浓度过高时,会干预昆虫的正常新陈代谢,导致其过早开始蜕皮或形态转变,结果形成体型过小或发育不全的个体。昆虫对这种物质极为敏感,轻微的接触可能致使不孕,严重时甚至死亡。蜕皮素因具有强烈的生物活性和高度的特异性,在不对非目标生物及环境产生负面影响的情况下,相比过去的化学农药要安全得多,因而成为开发新型环保杀虫剂和毒理学研究的首选物质^[4-5]。蜕皮素的关键成分 20-羟基蜕皮酮(20-Hydroxyecdysone, 20E)主导着昆虫由幼体向蛹和成虫转化。多数昆虫一旦完成成虫化变,合成蜕皮素的前胸腺将会逐渐萎缩。蜕皮素通过受体(包括但不限于细胞核受体如 EcR/USP 和膜受体如 DopEcR)运作,这些受体在成虫的众多组织中广泛存在,影响着成虫的行为模式、繁殖、生命周期、滞育和免疫等关键生理功能,对保障昆虫正常生理活动至关重要^[6-7]。转录组序列分析(RNA-Seq)被认为是一种高效率且速度快捷的研究工具,它可以帮助我们全面了解细胞中所有类型的 RNA,其中包括信使 RNA、核糖体 RNA、转运 RNA 以及各种非编码 RNA,并能深入识别那些具有生物学意义的已知基因和未被发现的基因序列。该技术还能够揭示多种基因之间的相互调控机制,并阐释不同基因表达模式如何相互影响^[8-9]。RNA-Seq 的应用已经广泛分布于生物科学、医药研究、临床试验以及药物开发等众多研究领域。近年来 RNA-Seq 在粘虫的研究中已得到一定的应用,主要集中在粘虫环境、生理、遗传与分子机制方面^[10],而对于粘虫外源注射蜕皮激素处理的转录组学研究还比较少。本文选定经过蜕皮激素处理后的粘虫作为研究材料,执行转录组的测序工作;借助生物信息学的方法,对搜集到的 Universal Gene 实施了种类分类及功能的标注,对表达量有显著差异的基因富集的生物途径进行剖析,并对这些差异性表达的基因开展了挑选与 qPCR 技术验证,旨在深入理解蜕皮激素在分子层面调控粘虫的生殖机能,为生物性防控措施与开发针对性农药的特定靶点提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

2024年7月下旬采集西藏自治区林芝市下

察禹县玉米上的粘虫,实验室繁殖两代待其种群稳定之后,选取羽化后粘虫雌虫 20 头,每头注射 40 μg 蜕皮激素(Sigma),对照组粘虫雌虫 20 头注射等量 PBS(磷酸盐缓冲盐溶液),3 d 后统计每头雌虫的产卵总量。

1.2 方法

1.2.1 提取样品总 RNA

为减少个体差异的影响,每一份 RNA 样本都含有 6 只来自粘虫的 RNA 提取物,将样本分作 2 批,对照组命名为 A1、A2、A3,处理组命名为 B1、B2、B3。样品处理过程中,先以 DNase 除去 DNA 杂质,再通过带 Oligo(dT)的磁珠分离出 mRNA。每份样本均通过 Agilent 2100 生物检测仪对其 RNA 浓度和纯净度进行测定。

1.2.2 文库构建

依照相关规范处置 RNA 实例,先用指定化学品将 mRNA 拆分成小段,接着用带有 6 种碱基随意配列的启动子对已断裂的 mRNA 作单链 cDNA 制备;之后准备双链 cDNA 合成所需的反应溶液,实施双链 cDNA 的合成,利用套装试剂做 cDNA 的双链净化工序;经净化的 cDNA 在端部进行修复,追加腺苷酸尾巴,并与测序接头连结;随后筛选适宜长度的片段,借助 PCR 技术加以扩增。构建好的基因库通过 Agilent 2100 Bio-analyzer 的品控合格后,借助 Illumina HiSeqTM 2500 或 Illumina HiSeq X Ten 高吞吐量的测序设备进行测序操作,以此获得长度为 125 或 150 个碱基对的双端读序信息。

1.2.3 Unigene 的获得与功能注释

1.2.3.1 数据预处理、质量控制与组装

由上海欧易生物医学科技有限公司建立基因库、完成测序操作,并对数据进行解析。在进行高吞吐量测序时获取的原始数据集(即未经处理的序列),存储格式为 fastq。为了提炼出更适合后续科学探究的高质量序列信息,必须对这批原始序列进行一系列质量过滤工作。步骤是利用 Trimmomatic^[11]工具开展质量控制,并且清除所有序列上的接头;在此基础上,淘汰质量不合标准的碱基和含 N 的碱基,从而获得品质上乘的“清洁读取”序列;之后利用 Trinity 2.4^[12]软件进行末端的配对拼接工作,根据序列间的相似度和长度,筛选并确定最长的唯一副本作为 Unigene。

1.2.3.2 Unigene 功能注释

运用 blastx^[13] 软件,在 10⁻⁵ 的 evalue 阈值下,将各 Unigene 逐一对照 NR、COG/KOG 和 Swissprot 资料库进行标注;依据与 Swissprot 的对照结果,将其对应的 Swissprot 识别码与 GO 术语进行匹配,以完成 Unigene 的 GO 分类记录;最后对 Unigene 数据在 KEGG^[14] 库中进行比对分析,旨在识别其相关的生化代谢路径信息。

1.2.3.3 Unigene 定量、差异 Unigene 筛选、功能富集及聚类分析

利用 bowtie2^[15] 和 eXpress^[16] 软件包分析获取了 Unigene 的 FPKM^[17] 和读数统计数据。通过 eXpress,我们定量了各样本中 Unigene 的读数情况,并采用 DESeqR package 的 estimate Size Factors 功能对读数进行规范化处理;随后使用 nbinom Test 功能进行 *p* 值和倍数变化的差异性检验;在此基础上,筛选出 *p* < 0.05 且变化倍数超过 2 的差异性 Unigene,并对它们执行 GO 与 KEGG 的富集分析,目的是识别这些 Unigene 主要影响的生物过程或途径。此外,对这些差异性 Unigene 还进行了非监督的分层聚类分析,并通过热图来呈现它们在各个样本中的表达差异。

1.2.3.4 CDS 预测和 SSR 分析

在 10⁻⁵ 的 evalue 阈值下,Unigene 序列将依序与 NR、SwissProt 和 KOG 进行比对研究。一旦某个序列在特定数据库中锁定了与之高度相符的蛋白质,便即刻中断与其他数据库的比较作业,不再做进一步的配对检索;倘若未找到,则该

序列会自动切换至新挑选的蛋白质数据库,继续进行匹配搜索。此流程将循环式执行,直到一一核对完毕所有特定的蛋白质数据库。在对应配对的结果里,挑选分数最高的蛋白质作为识别特定 Unigene 编码区的依据;而后根据典型的遗传密码指导,将这一编码段转译成相应的氨基酸链,解析出这一 Unigene 编码段的 DNA 排列(从 5' 端至 3' 端)及其匹配的蛋白链。针对查无对应数据库的 Unigene,采用 ESTScan 3.0.3^[18] 进行编码区域推算,提取它们从 5' 端至 3' 端方向的 DNA 及相应的蛋白质氨基酸链。采用 MISA 程序进行 SSR(简单重复序列)分析预测,并运用 Primer3 工具制定出 SSR 引物。在荧光定量聚合酶链式反应的检测范畴内,遵循 qPCR 构建的规则,应用 Primer6 程序定制待选基因的 qPCR 引物(表 1)。擎科生物科技有限公司制造了这批引发元件。此次试验中,以 *actin* 作为内参基因,选用 SYBR GREEN I 作为 qPCR 的染色试剂进行基因检测,并通过 2^{-ΔΔCT} 评估基因表达的相对数量。利用 qPCR 方法进行试验,所需配制的反应液总量为 10 μL,含 5 μL 倍增的 SYBR® Green Supermix 试剂,两种引物各 0.5 μL,1 μL 的 cDNA 模板和 3 μL 纯净的去离子水。步骤为:在 95 °C 下进行 3 min 预处理,然后按照 95 °C 10 s,60 °C 30 s 的热循环程序执行 39 次循环反应。在扩增阶段结束后,进行一个升温步骤,即从 60 °C 开始以每秒上升 1 °C 至 95 °C 的速率变化,收集构建熔解曲线分析所需数据。为了保证结果的稳定性和重复性,每个样本都将进行 3 次生物重复试验。

表 1 引物信息

基 因	引物序列(5'-3')	退火温度/°C
TRINITY_DN14452_c0_g1_i1_1	F: TGATGACACCAGTAAGATTG R: AAGACGAGGGTATTGACT	58
TRINITY_DN14321_c6_g1_i2_1	F: GTGTTGCTGATGCTGGTC R: ACTGCGTATCTGTTGGTG	58
TRINITY_DN16321_c0_g2_i3_3	F: CCACCGAAACCTTACACTA R: ACTTGAAGAGCAAACCT	60

2 结果与分析

2.1 产卵量差异统计

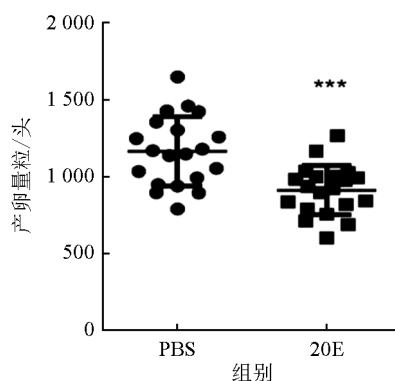
羽化后粘虫雌虫注射蜕皮激素,3 d 后统计每头雌虫的产卵量(图 1)。t 检验分析结果发

现,补充蜕皮激素(20E)的粘虫产卵量相较于未作处理的粘虫显著减少(*n* = 20, *p* < 0.05)。

2.2 转录组测序数据评估统计及拼接

6 个样本的转录组序列测定总计产生了 40.84 Gb 的洁净数据。由表 2 可知,样本原始数

据过滤后的碱基数为 6.57~7.11 Gb, Q30 质量的碱基所占比例为 92.90%~93.56%, 而 GC 的平均值为 49.19%。拼接统计结果显示, 所构建的单一基因(Unigene)共有 33 295 条, 大于等于 500 bp 的基因有 21 851 条, 大于等于 1 000 bp 的基因有 11 976 条, 全部基因总长度为 38 633 636 碱基对, 最大长度为 40 040 碱基对, 最小长度为 301 碱基对, 平均长度为 1 160.34 碱基对, N_{50} 为 1 792 碱基对。这些指标显示出粘虫的转录组测序数据具有较高的品质, 完全符合后续生物信息学分析的资料需求。



*** 表示 $p < 0.001$, 差异有统计学意义。

图 1 产卵量差异统计散点图

表 2 测序数据的评估统计

样品	原始数据中的 reads 数/Mb	原始数据中的碱基数/Gb	原始数据过滤后的 reads 数/Mb	原始数据过滤后的碱基数/Gb	有效碱基百分比/%	Q30/%	GC/%
A1	48.80	7.32	47.76	6.73	91.97	92.90	48.62
A2	50.08	7.51	49.08	7.01	93.26	93.19	48.78
A3	50.47	7.57	49.63	6.57	86.82	93.09	47.81
B1	48.82	7.32	47.82	6.77	92.43	93.01	49.31
B2	50.63	7.59	49.65	7.11	93.60	93.56	50.37
B3	47.20	7.08	46.27	6.65	93.99	93.33	50.22

2.3 粘虫差异表达基因

粘虫处理样本相较于对照的差异性基因分析显示, 共计有 10 015 个 Unigene 表现出差异表达, 这其中包括 5 675 个表达水平提高的基因和 4 340 个表达水平降低的基因。结果表明, 差异表达基因对蜕皮激素处理后的粘虫起到了非常重要的作用。

2.4 基因注释和功能分类

2.4.1 注释结果

在获取转录本之后, 需要进行功能的归属以明确各个基因的作用。为探求粘虫在接受蜕皮激素作用后其转录本的详细注释数据, 本研究与 7 个主要数据库进行了对照分析, 在 Unigene 数据库比对的结果显示: 共有 17 732 条 (53.26%) 基因与 NR 数据库对应, 11 109 条 (33.37%) 基因与 Swissprot 数据库对应, KEGG 数据库收录了 5 075 条 (15.24%) 基因, KOG 数据库也记录了同样数量 (15.24%) 的基因, eggNOG 数据库包含了 15 618 条 (46.91%) 基因信息, GO 数据库归类了 10 431 条 (31.33%) 基因, Pfam 数据库则有 11 297 条 (33.93%) 基因对应 (表 3)。此外, 将原始测序结果与 Unigene 数据库的基因序列进行比较, 发现比对成功率为 91.17%~92.36%。

2.4.2 差异表达基因 GO 功能富集

对经受过粘虫蜕皮激素处理与未接受处理

的对照组进行分析时, 共有 10 431 个独立的基因序列在基因本体论(GO)体系中得到归类, 可划归至 3 个主要的功能类别, 而每个类别中的注解种类及数量均有所区分。图 2 显示, 这 3 大类别包含生物进程、细胞组件及分子作用。在生物进程这一领域, 呈现出变异的基因大多关联于生物粘附、细胞调节以及细胞和组织的构建或由来; 就细胞组件而言, 大量变异基因涉及跨膜搬运、生物分子复合体、以及器官和细胞小器件的功能; 在分子作用层面, 则有相当数量的变异基因专注于蛋白质结合和酶促反应方面。

表 3 基因注释成功统计概率

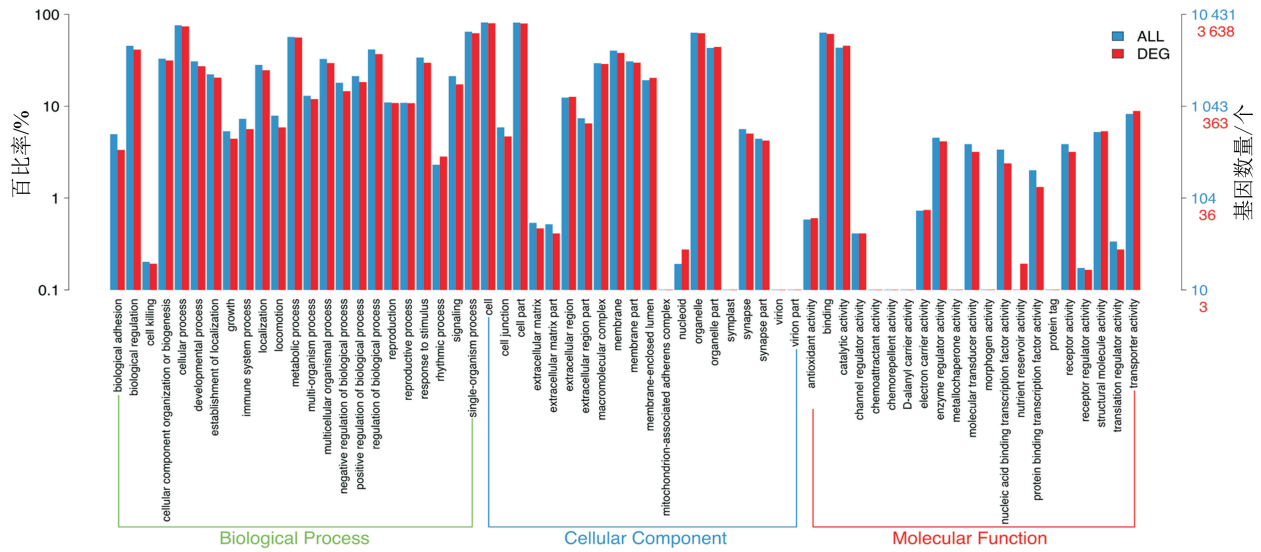
数据库	基因数/条	百分比/%
NR	17 732	53.26
Swissprot	11 109	33.37
KEGG	5 075	15.24
KOG	5 075	15.24
eggNOG	15 618	46.91
GO	10 431	31.33
Pfam	11 297	33.93

2.4.3 差异基因(DEGs)富集的 KEGG 通路分析

KEGG 是有关 Pathway 的主要公共数据库, 利用 KEGG 数据库对差异蛋白编码基因进行 Pathway 分析, 能够确定蜕皮激素处理的粘虫差异表达基因参与的主要生物途径。与对照组相比共

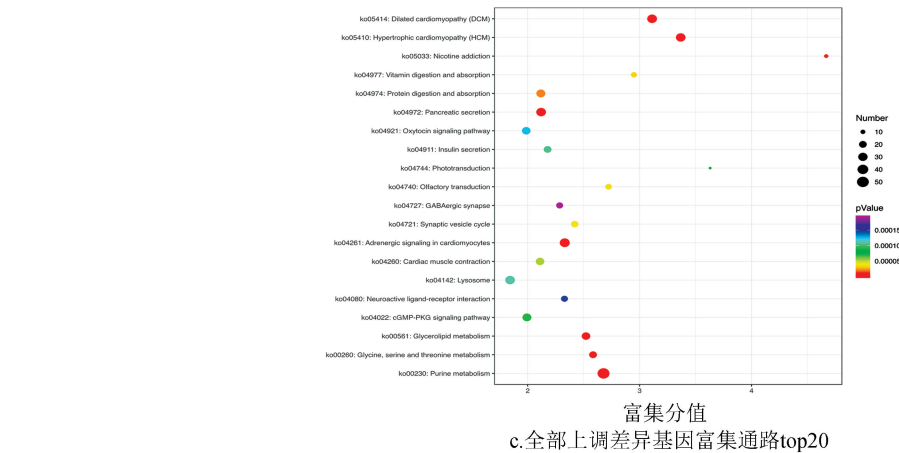
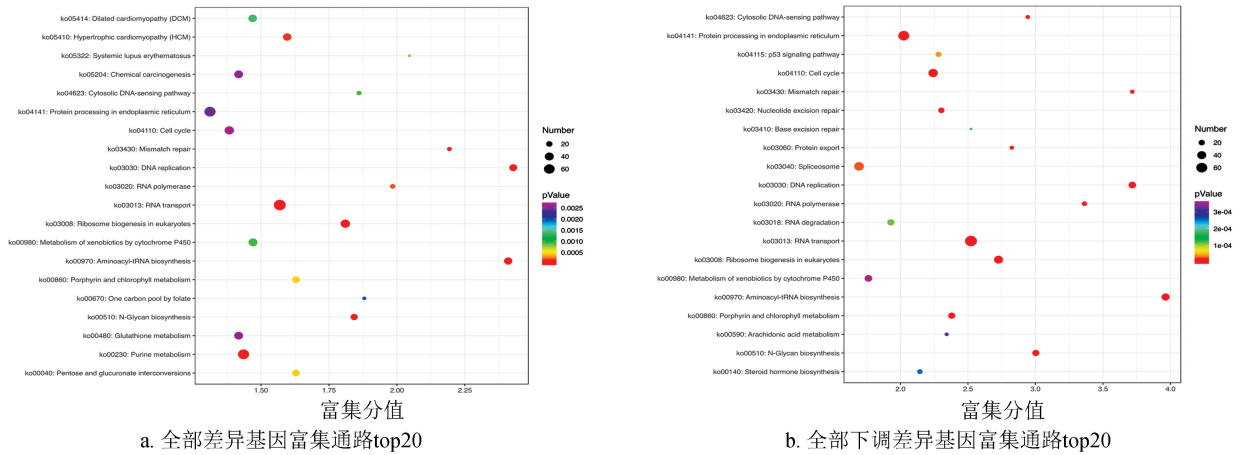
有 62 个差异基因 ($p < 0.05$ 或 $|\log_2FC| > 1$), 有 316 个基因表达上调和 312 个基因表达下调。差异基因富集于前 20 的 KEGG 代谢通路, 主要在氨酰生物合成、DNA 复制、真核生物中的核糖体

生物发生、RNA 运输、N-聚糖生物合成、错配修复、嘌呤代谢等通路中, 其中甾类激素生物合成通路中的葡萄糖醛酸转移酶、糖基转移酶和多萜醇转移酶基因表达量显著下调(图 3)。



注: All 表示所有基因富集的 GO 条目, DEG 表示差异基因富集的 GO 条目。

图 2 差异表达基因 GO 功能富集



注: 气泡越大的条目包含的差异蛋白编码基因数目越多; 富集 p 值越小, 显著程度越大。

图 3 KEGG 富集 top20 气泡图

2.4.4 qPCR 验证

为了验证转录组测序数据的准确性,选取 β -actin 作为参考基因,并运用实时定量 PCR (qPCR) 方法,对于甾体激素生物合成路径中呈

现降低表达的若干酶基因(葡萄糖醛酸转移酶、糖基转移酶与多萜醇转移酶)进行了检验。结果表明,qPCR 结果与转录测序结果一致(图 4)。

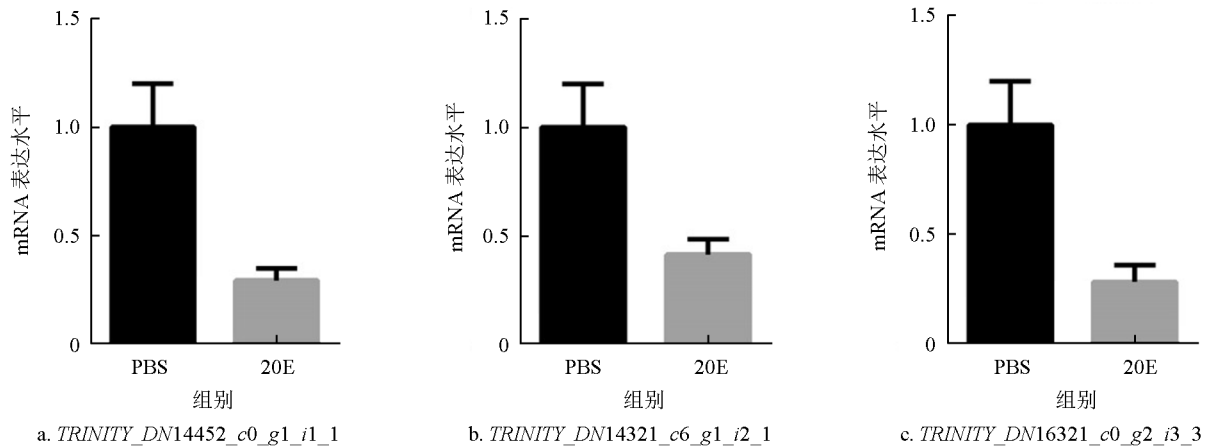


图 4 关键基因表达 qPCR 分析

3 讨论与结论

本研究发现外源性补充 20E 可以明显抑制粘虫的生殖力。昆虫的卵黄蛋白 Vg 是卵生成的重要前体,卵母细胞吸收卵黄蛋白发育成为成熟的卵。在马德拉家蚕成熟个体中,脱皮激素的存在抑制了黄体原蛋白的产生^[19]。至于印度麦粉螟,其脱皮激素含量减少时有助于早期蛹阶段的黄体生成,而一旦进行了脱皮激素的处理,则会阻止卵母细胞对 Vg 的摄取^[20]。本研究采用转录组序列测定和 KEGG 路径分析,观察到在蜕皮激素处理后,排在前 20 位的基因主要集中在类固醇激素生产的通路上。在这一通路中,与糖类转化相关的酶类,如葡萄糖醛酸转移酶、糖基转移酶和多萜异戊二醇基转移酶的表达量显著降低。常见于昆虫体内的保幼激素第 3 型(JH III)的生物合成途径包括 5 个主要步骤:始于乙酰辅酶 A 转化为甲羟戊酸,然后是异戊二烯焦磷酸(IPP),接下来为法尼焦磷酸(FPP),并经由法内酸(FA)的转化最后生成 JH III^[21-22]。JH 的合成途径在进展到法尼焦磷酸阶段以前,与胆固醇和其他类似固醇化合物的合成途径相同。鉴于昆虫体内缺乏合成鲨烯与羊毛脂醇所需的酶,这类生物不能沿着制造固醇化合物的途径继续。昆虫采取了一条专门的路径,并借助于不同酶类,如葡萄糖醛酸转移酶、糖基转移酶以及多萜醇转移酶,来合成属于倍半萜类的 JH 物质。JH 和

20E 互作拮抗共同调控昆虫的生殖、发育和变态,推测对粘虫成虫外源性补充 20E 可能抑制了 JH 合成通路酶的转录水平,进而影响了 JH 滴度的降低,最终导致粘虫成虫产卵量降低。本试验结果证实了蜕皮激素可以抑制粘虫正常的生殖机能,导致其产卵量显著降低因而在粘虫防治领域有着较好的应用前景。

参考文献:

- [1] 江幸福,张蕾,程云霞,等.我国粘虫研究现状及发展趋势[J].应用昆虫学报,2014,51(4):881-889.
- [2] 姜玉英,李春广,曾娟,等.我国粘虫发生概况:60 年回顾[J].应用昆虫学报,2014,51(4):890-898.
- [3] 江幸福,张蕾,程云霞,等.我国粘虫发生危害新特点及趋势分析[J].应用昆虫学报,2014,51(6):1444-1449.
- [4] 林峰,袁冬菊,赵博光,等.昆虫蜕皮激素和保幼激素对松材线虫繁殖的影响[J].江西农业大学学报,2014,36(2):309-313.
- [5] 刘永杰,徐蓬军,李艳伟,等.昆虫蜕皮激素受体及其类似物的杀虫机制研究进展[J].昆虫学报,2007,50(1):67-73.
- [6] 杨栋梁,郝婧,王彦男,等.昆虫成虫蜕皮激素研究进展[J].生命科学,2014,26(8):874-881.
- [7] 黄海艺,赵月明,武晓亮,等.外源保幼激素对中华通草蛉滞育解除及滞育后发育的影响[J].昆虫学报,2021,64(3):392-399.
- [8] 宋尚桥,马围围,张超龙,等.基于转录组测序生物信息学分析的研究进展[J].中国畜牧兽医,2020,47(2):392-398.

- [9] SU L, YANG C L, MENG J Y, et al. Comparative transcriptome and metabolome analysis of *Ostrinia furnacalis* female adults under UV-a exposure[J]. Scientific Reports, 2021, 11: 6797.
- [10] LI P R, LI X R, WANG W, et al. Transcriptional identification of differentially expressed genes during the prepupal-pupal transition in the oriental armyworm, *Mythimna separata* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae)[J]. Bulletin of Entomological Research, 2021, 111(4): 485-498.
- [11] BOLGER A M, LOHSE M, USADEL B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data Open access[J]. Bioinformatics, 2014, 30(15): 2114-2120.
- [12] GRABHERR M G, HAAS B J, YASSOUR M, et al. Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome[J]. Nature Biotechnology, 2011, 29(7): 644-652.
- [13] ALTSCHUL S F, GISH W, MILLER W, et al. Basic local alignment search tool[J]. Journal of Molecular Biology, 1990, 215(3): 403-410.
- [14] KANEHISA M, ARAKI M, GOTO S, et al. KEGG for linking genomes to life and the environment[J]. Nucleic Acids Research, 2008, 36 (Database issue): 480-484.
- [15] LANGMEAD B, SALZBERG S L. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2[J]. Nature Methods, 2012, 9(4): 357-359.
- [16] ROBERTS A, PACHTER L. Streaming fragment assignment for real-time analysis of sequencing experiments[J]. Nature Methods, 2013, 10(1): 71-73.
- [17] TRAPNELL C, WILLIAMS B A, PERTEA G, et al. Transcript assembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation[J]. Nature Biotechnology, 2010, 28(5): 511-515.
- [18] ISELI C, JONGENEEL C V, BUCHER P. ESTScan: a program for detecting, evaluating, and reconstructing potential coding regions in EST sequences[J]. Proceedings International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology, 1999(8): 138-148.
- [19] ENGELMANN F. Ecdysteroids, juvenile hormone and vitellogenesis in the cockroach *Leucophaea maderae* Open access[J]. Journal of Insect Science, 2002, 2(1): 20.
- [20] SHIRK P D, ZIMOWSKA G, SILHACEK D L, et al. Initiation of vitellogenesis in pharate adult females of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella* [J]. Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 1992, 21(1): 53-63.
- [21] RIDDIFORD L M. Juvenile hormone action: a 2007 perspective[J]. Journal of Insect Physiology, 2008, 54(6): 895-901.
- [22] 刘艳, 胜振涛, 蒋容静, 等. 保幼激素合成的研究进展[J]. 昆虫学报, 2007, 50(12): 1285-1292.