异色瓢虫*Scalloped*基因鉴定及其对翅发育的影响

张伟伟 周 旬 尹嘉怡 卫小琳 张 彬* 石 岩*

（青岛农业大学植物医学学院，山东 青岛 266109）

摘要：为解析天敌昆虫异色瓢虫*Harmonia axyridis*翅发育的分子机制，克隆异色瓢虫Hippo信号通路核心因子*Scalloped*同源基因，对其进行生物信息学分析，测定其在异色瓢虫不同发育阶段中的相对表达量，分析沉默*Scalloped*基因对异色瓢虫存活、羽化、成虫前后翅周长及翅畸形的影响，并于显微镜下观察沉默*Scalloped*基因后异色瓢虫翅基肌肉微观组织结构变化。结果表明：异色瓢虫Scalloped蛋白含高度保守TEA、YAP功能结构域；*Scalloped*的氨基酸序列与瓢虫科近缘物种的氨基酸序列亲缘关系较近、基因排布模式高度一致；在异色瓢虫不同发育阶段*Scalloped*基因均表达，其中在成虫期的相对表达量最高，卵期次之；异色瓢虫3龄幼虫注射ds*Scalloped*后，抑制作用可持续至幼虫期、蛹期和成虫期，且最优剂量为每头注射80 ng；随ds*Scalloped*注射剂量升高，异色瓢虫成虫翅畸形逐级加重，当每头注射80 ng ds*Scalloped*后成虫前后翅周长均较对照极显著降低，飞行能力彻底丧失，蛹体翅基皱缩畸变，蛹翅基肌纤维破碎、肌细胞排布紊乱。表明*Scalloped*是调控异色瓢虫翅形态、飞行肌发育及变态蜕皮的关键基因。

关键词：异色瓢虫；*Scalloped*；RNA干扰；翅发育；Hippo通路；石蜡切片

Identification of the *Scalloped* gene in multicolored Asian lady beetle *Harmonia axyridis* and its role in wing development

Zhang Weiwei Zhou Xun Yin Jiayi Wei Xiaolin Zhang Bin* Shi Yan*

（College of Plant Health and Medicine, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, Shandong Province, China）

Abstract: To elucidate the molecular mechanism underlying wing development in the natural enemy insect *Harmonia axyridis*, the homolog of *Scalloped*, a core component of the Hippo signaling pathway, was cloned and subjected to bioinformatic analysis. Its relative expression levels at different developmental stages, were determined, and the effects of *Scalloped* silencing on survival, adult emergence, forewing and hindwing perimeters and wing malformation were investigated. In addition, microscopic observations were performed to examine changes in the microstructure of wing-base muscles following *Scalloped* silencing. The results showed that the Scalloped protein contains highly conserved TEA and YAP functional domains. The amino acid sequence of *Scalloped* from *H. axyridis* showed high similarity to those of closely related coccinellid species, and the gene organization was highly conserved. *Scalloped* was expressed throughout all developmental stages of *H. axyridis*, with the highest relative expression in adults, followed by eggs, Injection of ds*Scalloped* into the 3rd-instar larvae resulted in persisted gene silencing throughout the larval, pupal and adult stages, with an optimal dose of 80 ng per individual. Increasing doses of ds*Scalloped* caused progressively more severe, wing malformation. At a dose of 80 ng per individual, both forewing and hindwing perimeters were significantly lower than

基金项目：山东省高校青创团队计划项目（2023KJ164）

* 通信作者（Authors for correspondence），E-mail：shiyanyuanyi@qau.edu.cn，binzhang@qau.edu.cn

收稿日期：2026-01-29

those of the control group, flight capacity was completely lost, the pupal wing bases exhibited shrinkage and deformation, and fractured muscle fibers together with disorganized muscle cell arrangement were observed at the wing bases. These results demonstrate that *Scalloped* is a key regulator of wing morphogenesis, flight muscle development and metamorphosis in *H. axyridis*.

Key words: *Harmonia axyridis*; *Scalloped*; RNA interference; wing development; Hippo signaling pathway; paraffin section

异色瓢虫 *Harmonia axyridis* 隶属于鞘翅目瓢甲科瓢虫属 *Harmonia*，是广泛分布的一种捕食性天敌昆虫（王甦等，2007）。该天敌可捕食蚜虫、粉虱、叶螨以及部分鳞翅目低龄幼虫等多种重要农林害虫（王倩倩等，2019；蔡志平等，2024），从而控制害虫种群数量，在农田与园林生态系统中发挥不可或缺的作用（吴钰薇等，2022；杨桂群等，2022）。飞行扩散能力直接影响异色瓢虫的觅食范围与种群定殖，而翅正常发育是保障其运动功能的前提（Jeffries et al.，2013；韩宗礼等，2017）。因此，解析异色瓢虫翅发育调控的关键基因对其应用具有重要意义。

Hippo 信号通路是进化上高度保守的抑制生长通路，在控制器官大小、维持组织稳态及调控细胞增殖与凋亡中发挥着核心作用（Davis & Tapon，2019）。在经典模式昆虫黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 中，当 Hippo 通路激活时，上游核心激酶 Hippo 磷酸化激活下游激酶 Warts，活化的 Warts 可进一步磷酸化转录辅助因子 Yorkie，促使 Yorkie 滞留于细胞质中或发生降解，从而丧失核转录激活能力，进而抑制细胞过度增殖；而当 Hippo 通路失活时，细胞生长信号、密度变化等外界信号阻断该磷酸化级联，使 Yorkie 发生去磷酸化并转入至细胞核中（Zhao et al.，2011；陈诚等，2016；Davis & Tapon，2019）。由于 Yorkie 无 DNA 结合结构域，入核后需特异性结合含保守 TEA 结构域的转录因子 Scalloped 形成功能复合体，其中 Scalloped 作为 TEAD 家族核心转录因子，可特异性识别 *cycE*、*diap1* 等细胞增殖、凋亡相关靶基因的启动子区域，为复合体提供 DNA 结合平台，通过调控靶基因转录水平，精准把控细胞增殖速率与存活状态，最终决定昆虫器官的形态与大小（Huang et al.，2005；Shu & Deng，2017；孙书国等，2017）。Scalloped 是进化高度保守的 TEAD 家族转录因子，为 Hippo 信号通路下游核心功能执行蛋白，依靠 N 端 TEA 保守结构域识别靶基因启动子、C 端 YAP 结构域结合通路辅因子，直接介导细胞增殖、组织分化等核心发育进程，是昆虫翅发育领域研究的核心靶点（Wu et al.，2008；陈诚等，2016；Zhang et al.，2022）。*Scalloped* 基因被证实是黑腹果蝇翅成虫盘发育的关键决定因子，其突变会导致翅缘缺刻或翅完全缺失（Paumard-Rigal et al.，1998；Srivastava & Bell，2003）。此外，Black & Olson（1998）研究发现 *Scalloped* 基因不仅参与上皮组织的增殖，还能与肌细胞增强因子 2（myocyte enhancer factor-2，Mef2）相互作用，协同调控肌肉细胞的分化与成熟；Paumard-Rigal et al.（1998）和付明月等（2014）研究结果表明 *Scalloped* 基因在翅–肌系统的同步发育中可能扮演着多重转录中枢的角色。尽管 Hippo 通路在双翅目昆虫中的功能较明确，但在拥有坚硬前翅的鞘翅目昆虫中，*Scalloped* 基因功能表现出更复杂的物种特异性（Wu et al.，2008）。例如，沉默 *Scalloped* 基因后，茄二十八星瓢虫 *Henosepilachna vigintioctopunctata* 蛹期出现严重的蜕皮障碍，表明茄二十八星瓢虫 *Scalloped* 基因的功能与果蝇中功能不同（Ohde et al.，2009）。即使在鞘翅目昆虫内部，*Scalloped* 基因在变态发育和翅形成中的调控机制也可能存在分化。例如，赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* 体内 *Scalloped* 基因不仅参与翅的延伸，敲除该基因后赤拟谷盗幼虫蜕皮停滞，发育受阻，但未直接影响蜕皮激素合成途径基因的表达（Minakuchi et al.，2015）。目前关于异色瓢虫中 *Scalloped* 基因的生物学功能尚未清楚。

为明确异色瓢虫翅发育分子机制及 *Scalloped* 基因的功能，本研究克隆鉴定异色瓢虫 *Scalloped* 同源基因，对其进行氨基酸序列比对、系统进化树分析、外显子–内含子结构等生物信息学分析；采用实时荧光定量 PCR（quantitative real time PCR，qPCR）技术检测该基因在卵、3 龄幼虫、蛹、成虫 4 个关键发育阶段的相对表达量；设置 60、80、100 ng 三种双链核糖核酸（double-stranded RNA，dsRNA）注射剂量进行 RNA 干扰（RNA interference，RNAi）试验，分别于注射后 24 h（幼虫期）、6~8 d（蛹期）及 11~13 d（成虫期）检测 *Scalloped* 基因的沉默效果，观察试虫的存活与羽化状态，测量羽化成虫前后翅周长及翅畸形程度，并于显微镜下观察翅基肌肉微观组织结构

变化，以期揭示该基因协同调控翅原基增殖、翅基飞行肌分化及变态蜕皮的内在作用机制，为异色瓢虫的繁育提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试昆虫与植物：异色瓢虫种群购于河南济源科云生物农药有限公司，置于温度（25±1）℃、相对湿度60%~70%、光周期16 L∶8 D的人工气候箱中用豌豆蚜*Acyrthosiphon pisum*饲养，连续驯化3代以上，取卵、3龄幼虫、蛹和成虫供试。豌豆蚜种群购于河南全应生物有限公司，于为（25±1）℃、相对湿度60%~70%、光照周期14 L∶10 D的人工气候箱内饲养，用无农药污染、健康的中豌6号豌豆苗饲喂；每3~5 d更换新鲜豌豆苗，保证寄主植物充足且无老化；维持豌豆蚜种群连续驯化3代以上，选取大小均匀、活力良好的无翅成蚜饲喂异色瓢虫。中豌6号豌豆种子，购于寿光欣欣然园艺有限公司，播于装有基质、口径13.8 cm、底径8.5 cm、高11.6 cm的盆中，每盆4株；置于温度（25±1）℃、相对湿度60%~70%、光照周期14 L∶10 D的人工气候箱内培养，选取分枝期健壮豌豆苗作为寄主。

试剂：Trizol试剂、PCR扩增试剂盒，美国Invitrogen公司；琼脂糖凝胶回收试剂盒，天根生化科技（北京）有限公司；r*Taq*（Premix）、限制性内切酶、T4 DNA连接酶、PrimeScript™ RT Reagent Kit with gDNA Eraser，日本TaKaRa公司；dsRNA合成试剂盒、GeneArt™ Precision gRNA Synthesis Kit，美国Thermo Fisher科技公司；实时荧光定量PCR试剂盒，瑞士Roche公司；其他试剂均为国产分析纯。

仪器：960基因扩增仪，杭州晶格科学仪器有限公司；Q2000C型实时荧光定量PCR仪，杭州朗基科学仪器有限公司；JY04S-3C型凝胶电泳仪及成像设备，北京君意东方电泳设备有限公司；NanoDrop One C超微量分光光度计，美国赛默飞世尔科技公司；RY804K-3D显微镜，上海致旺电子科技有限公司；MICRO2T显微注射仪，上海旺泰客科学仪器有限责任公司；KD-P恒温摊片机，金华市科迪仪器设备有限公司；MoticAE31倒置数码显微镜，麦克奥迪实业集团有限公司；M205C解剖镜，徕卡显微系统（上海）贸易有限公司。

1.2 方法

1.2.1 异色瓢虫*Scalloped*基因的生物信息学分析

从NCBI数据库中检索并获取异色瓢虫*Scalloped*基因的核苷酸及氨基酸序列。同时，自NCBI数据库中下载鞘翅目、鳞翅目、双翅目及半翅目的其他14种代表性昆虫*Scalloped*基因的同源序列。利用DNAMAN软件对这15种昆虫*Scalloped*基因编码蛋白的氨基酸序列进行多重序列比对，确定序列同源性及保守结构域特征。利用MEGA-X软件，采用最大似然法构建系统进化树，Bootstrap重复次数设为1 000次。此外，结合上述15种物种的基因组注释信息，利用GSDS 2.0在线工具绘制*Scalloped*基因的外显子–内含子结构图，并分析该基因在不同昆虫类群中的结构进化特征。

1.2.2 异色瓢虫体内*Scalloped*基因的表达量分析

异色瓢虫卵取1粒（1个重复），3龄幼虫、蛹和成虫各取1头（1个重复），每个发育阶段样品重复4次，采用Trizol法提取样品总RNA，使用1%琼脂糖凝胶电泳检测RNA质量，使用分光光度计检测其浓度，当样品的$OD_{260\ nm}/OD_{230\ nm}$吸光度比值均介于1.8~2.2之间时样品合格。不同发育阶段的总RNA各取1.0 μg，采用PrimeScript™ RT Reagent Kit with gDNA Eraser反转录合成cDNA第一条链，将所得的cDNA于−20 ℃保存，备用。

基于1.2.1下载的异色瓢虫*Scalloped*基因的核苷酸序列，运用Primer Premier 5.0软件设计qPCR引物（表1），引物均委托生工生物工程（上海）股份有限公司合成。以异色瓢虫*EF-1α*基因为内参基因，采用qPCR技术对不同发育阶段异色瓢虫*Scalloped*基因的相对表达量进行分析。20 μL qPCR反应体系：cDNA模板1 μL、SYBR® Premix Ex *Taq*™ II 10.5 μL、正反引物各0.5 μL、Nuclease-free水7.5 μL。采用两步法程序进行qPCR反应。扩增程序：95 ℃预变性30 s；95 ℃变性5 s，60 ℃退火和延伸30 s，共40个循环。熔解程序：快速升温至95 ℃变性15 s，降温至60 ℃退火15 s，将反应体系缓慢升温至95 ℃保持15 s。采用$2^{-\Delta\Delta CT}$法计算不同发育阶段目的基因的相对表达量。

1.2.3 dsRNA合成

基于异色瓢虫*Scalloped*基因的部分核苷酸序列，利用E-RNAi网站（https://e-rnai. dkfz. de/signaling/e rnai3/）设计ds*Scalloped*的特异性引物ds*Scalloped*-F/ds*Scalloped*-R（表1），并在正、反向引物5′端添加T7启动子序列。以1.2.2合成的cDNA为模板，进行PCR扩增。25 μL PCR扩增体系：cDNA模板1 μL、r*Taq*（Premix）12.5 μL、正反向引物各0.5 μL、ddH_2O补足至25 μL。PCR扩增程序：

94 ℃预变性3 min；94 ℃变性30 s，55 ℃退火30 s，72 ℃延伸2 min，35个循环；4 ℃终延伸。使用琼脂糖凝胶回收试剂盒回收目标条带，作为体外合成dsRNA的模板。按照dsRNA合成试剂盒说明书合成dsRNA，用焦碳酸二乙酯（diethyl pyrocarbonate，DEPC）水对其进行溶解。分别利用1%琼脂糖凝胶电泳和分光光度计对dsRNA质量和浓度进行检测，将检测合格的dsRNA置于−80 ℃冰箱中保存，备用。

表1 本研究所用引物

Table 1 Primers used in this study

引物 Primer	引物序列（5′−3′） Primer sequence（5′−3′）
PCR-Sd	F: AGTCCAGATATTGAACAGAG
	R: TTTCTCAGGCAAGTGTTTCA
qPCR-Sd	F: CCAAGATGTCAAACCCTTT
	R: CTTCTTCACGATTTCGAGA
qPCR-EF	F: TTGAAAGTCGTGAGCGTTC
	R: GAGGATTGGAGGTAAAGCATC
ds*Scalloped*	F: TAATACGACTCACTATAGGGTCCAGTTTGGGAAGGTCGTG
	R: TAATACGACTCACTATAGGGCAGGCAAGTGTTTCAGTTTAT
ds*EGFP*	F: TAATACGACTCACTATAGGGAGGTACGGCGTGCAGTGCT
	R: TAATACGACTCACTATAGGGTGATCGCGCTTCTCG

下划线所示为T7启动子序列。The underlined sequences indicate the T7 promoter sequence.

1.2.4 RNAi干扰效果的测定

用DEPC水将合成的ds*Scalloped*和ds*EGFP*（对照）均稀释至2 000 ng/μL。用显微注射仪将其分别注射到异色瓢虫3龄幼虫体内，每头注射60、80和100 ng，每个处理20头试虫，重复3次，分别于注射后24 h（幼虫期）、6~8 d（蛹期）及11~13 d（成虫期）取样，每个处理取4头，重复3次。按照1.2.2方法提取样品RNA，合成cDNA，检测不同发育阶段内样品*Scalloped*基因的相对表达量。

1.2.5 沉默*Scalloped*对异色瓢虫存活及翅表型的影响

取浓度为2 000 ng/μL的ds*Scalloped*溶液，用显微注射仪将其注射到异色瓢虫3龄幼虫体内，每头分别注射60、80和100 ng，以注射等量等浓度的ds*EGFP*为对照，每个重复20头试虫，每个处理重复3次。每天观察试虫的存活状态，待成虫羽化后，采用人工刺激法判断其飞行能力。当轻触背部，出现振翅、腾空等行为，判断试虫仍具有飞行能力，否则无飞行能力。每个处理随机选取10头羽化成虫，解剖翅，于RY804K-3D显微镜下拍照并测量其前翅和后翅的周长。根据上述结果确定ds*Scalloped*最佳注射剂量用于后续试验。

1.2.6 沉默*Scalloped*对异色瓢虫蛹翅基表型的影响

根据1.2.5结果确定ds*Scalloped*的最佳注射量为每头80 ng。取浓度2 000 ng/μL为的ds*Scalloped*溶液，用显微注射仪将其注射到异色瓢虫3龄幼虫体内，每头注射为80 ng，以注释等量等浓度的ds*EGFP*为阴性对照，以未注射任何试剂的异色瓢虫为空白对照。每个重复20头试虫，每个处理重复3次。待试虫正常化蛹后，于蛹期第2天每个处理采集20头试虫，其中10头置于RY804K-3D显微镜下观察其翅及翅基区域并拍照，另外10头用于石蜡切分处理。每个处理重复3次。

1.2.7 沉默*Scalloped*对异色瓢虫蛹翅基肌肉组织的影响

将1.2.6采集的试虫冰浴麻醉5~10 min，置于预冷0.01 mol/L磷酸盐缓冲溶液（phosphate buffer saline，PBS）中，剔除体表虫蜕与杂质，PBS漂洗两次，每次3 min。用解剖针于蛹腹节两侧扎2~3个微孔（孔径<0.1 mm），将蛹体转移至5 mL青霉素小瓶中，加入4%多聚甲醛-PBS固定液完全浸没样品，于4 ℃固定6~8 h。弃固定液，置于预冷0.01 mol/L PBS中，于50 r/min摇床漂洗3次、每次10 min，去除残留固定液。将样品置于pH为8.0的5%乙二胺四乙酸（ethylene diamine tetraacetic acid，EDTA）软化液中，37 ℃恒温软化24~36 h，每12 h更换一次新鲜软化液；软化结束后，0.01 mol/L PBS漂洗3次，每次10 min，洗净残留EDTA。于室温密封条件下依次经梯度乙醇脱水，即70%乙醇脱水120 min，85%乙醇脱水90 min，95%乙醇脱水两次，各60 min，100%乙醇脱水两次，各40 min。脱水后置于经无水乙醇和冬青油的混合液（体积比1∶1）浸泡60 min，纯冬青油浸泡两次，分别浸泡60 min和40~60 min，此时蛹体呈半透明蜡状，翅芽及翅基肌肉区域轮廓清晰。将54~56 ℃熔融石蜡置于56 ℃烘箱保温中，将样品依次经冬青油和石蜡的混合液（体积比1∶1）中浸蜡1.5 h，纯液态石蜡中浸蜡两次，每次各2 h，全程56 ℃恒温浸蜡。包埋框与镊子56 ℃预热10 min，向包埋框倒入液态石蜡，于解剖镜下快速将蛹体摆呈侧卧状态，保证翅基肌肉背侧切面朝下，翅基肌肉集中区域对准包埋框中央。冷水浴中冷却15 min凝固成型，拆除包埋框后将蜡块修整为上底5 mm、下底8 mm的梯形，保证翅基肌肉区域居于蜡块中

央，边缘预留2 mm石蜡层。将修整蜡块固定于切片机上，切片厚度设置为5 μm，匀速切片获得连续蜡带。调整恒温摊片机温度至40 ℃，蒸馏水水槽中展片3~5 min，用多聚赖氨酸玻片捞取蜡带，保证切片居中，用滤纸吸除多余水分。将切片置于37 ℃烘箱低温慢烘24 h。烘片经常规脱蜡、HE染色、梯度乙醇脱水、冬青油透明处理、中性树胶封片、通风处晾干后，采用倒置数码显微镜观察。

1.3 数据分析

采用SPSS 22.0软件对数据进行统计分析。应用独立样本*t*检验法进行两组间差异显著性检验；多组间差异采用单因素方差分析，应用Duncan氏新复极差法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 异色瓢虫Scalloped蛋白氨基酸序列比对结果

异色瓢虫Scalloped蛋白的氨基酸序列在进化上高度保守，具有TEAD转录因子家族典型的特征，即包含位于N端的TEA结构域和位于C端的YAP结构域（图1）。异色瓢虫*Scalloped*基因的氨基酸序列与鞘翅目昆虫*Scalloped*基因的氨基酸序列的相似度最高，其中保守结构域内氨基酸序列几乎完全相同（图1）。

2.2 异色瓢虫Scalloped蛋白的系统发育分析结果

异色瓢虫与同属于瓢虫科的七星瓢虫*Coccinella septempunctata*及茄二十八星瓢虫聚为一支，且节点支持率较高，表明它们之间的亲缘关系最近；而与赤拟谷盗等其他鞘翅目昆虫聚为一大支，与双翅目和鳞翅目的亲缘关系则相对较远（图2）。

2.3 异色瓢虫*Scalloped*基因的结构分析

*Scalloped*基因的内含子长度和外显子数量在不同目之间存在显著差异，但同目昆虫内表现出较高的结构保守性。异色瓢虫*Scalloped*基因的外显子–内含子排布模式与七星瓢虫及茄二十八星瓢虫最相似，具有典型的鞘翅目基因结构特征，表明该基因在瓢虫科昆虫进化过程中保持了较高的稳定性（图3）。

2.4 异色瓢虫体内*Scalloped*基因的相对表达量

*Scalloped*基因在异色瓢虫各发育阶段均有表达，但不同发育阶段的相对表达量差异显著（图4）。其中*Scalloped*基因在异色瓢虫成虫期的相对表达量最高，显著高于其他发育阶段（$P<0.05$）；在卵期次之（图4）。

2.5 RNAi干扰效果

注射ds*Scalloped*后，异色瓢虫幼虫体内*Scalloped*基因的相对表达量均显著低于对照，且随注射剂量升高其相对表达量持续下降，表明幼虫期即可产生明显的沉默效果（图5-A）。注射60 ng和80 ng剂量ds*Scalloped*后，异色瓢虫蛹体内*Scalloped*基因的相对表达量仍显著低于对照，且随注射剂量增大而其相对表达量持续下降，表明注射的ds*Scalloped*在蛹期仍具备稳定的沉默作用（图5-B）。注射ds*Scalloped*后，异色瓢虫羽化后成虫体内*Scalloped*基因的相对表达量仍然被显著抑制，且80 ng剂量的沉默效果最优，表明幼虫期导入dsRNA产生的干扰效应可延续至成虫期（图5-C）。

2.6 沉默*Scalloped*对异色瓢虫存活的影响

注射60~100 ng ds*EGFP*后异色瓢虫成虫翅型发育正常（图6-A~C）；注射60 ng ds*Scalloped*后异色瓢虫全部成功羽化，成虫前翅稍微皱缩，但仍有飞行能力（图6-D）；注射80 ng ds*Scalloped*后异色瓢虫全部成功羽化，成虫前翅严重皱缩、卷曲，后翅严重皱缩，飞行能力完全丧失（图6-E）；注射100 ng ds*Scalloped*后异色瓢虫无法正常羽化，甚至未正常化蛹就全部死亡了（图6-F）。表明沉默异色瓢虫体内*Scalloped*基因影响异色瓢虫成虫翅的形成。

2.7 沉默*Scalloped*对异色瓢虫成虫翅表型的影响

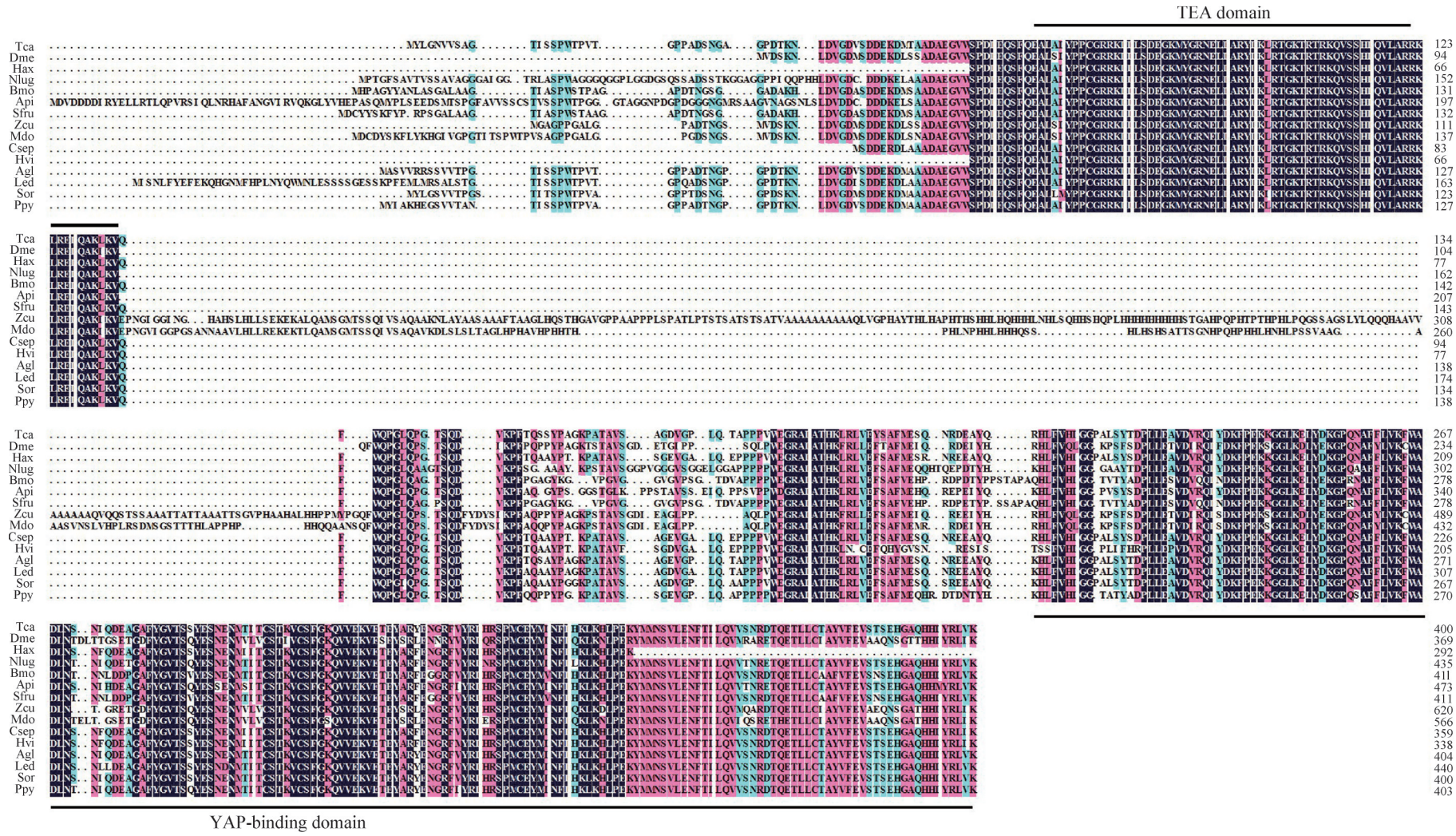
注射80 ng ds*Scalloped*后，异色瓢虫成虫前翅和后翅的周长均极显著低于对照（$P<0.000\ 1$，图7）。表明沉默*Scalloped*基因导致翅畸形。

2.8 沉默*Scalloped*对异色瓢虫蛹翅基表型的影响

空白对照和80 ng ds*EGFP*处理后，异色瓢虫蛹翅基轮廓规整，翅芽发育饱满完整，翅原基无畸形、发育滞后等异常特征（图8-A~B）；80 ng ds*Scalloped*处理后，异色瓢虫蛹翅基显著皱缩畸变，角质化异常，翅外部形态出现明显缺陷（图8-C）。

2.9 沉默*Scalloped*对异色瓢虫蛹翅基肌肉组织的影响

空白对照处理后，异色瓢虫蛹翅基内部肌肉组织排列致密有序，细胞分层清晰、分化成熟，肌纤维结构完整（图9-A）；80 ng ds*EGFP*处理后，异色瓢虫蛹翅基与空白对照无差异（图9-B）；80 ng ds*Scalloped*处理后，异色瓢虫蛹翅基肌肉细胞排布杂乱无序，肌纤维松散破碎，细胞分化进程受阻，组织间隙显著增大，翅基肌肉发育受到严重损伤（图9-C）。表明沉默*Scalloped*基因不仅抑制异色瓢虫蛹翅基肌肉的正常分化与发育，而且对全身肌肉组织发育有抑制作用。



Tca：赤拟谷盗；Csep：七星瓢虫；Hvi：茄二十八星瓢虫；Agl：光肩星天牛；Led：马铃薯甲虫；Sor：稻象甲；Ppy：萤火虫；Dme：黑腹果蝇；Zcu：瓜实蝇；Mdo：家蝇；Bmo：家蚕；Sfru：草地贪夜蛾；Nlug：褐飞虱；Api：豌豆蚜。浅蓝色背景：完全保守疏水氨基酸；玫红色背景：保守带电氨基酸；黑色背景：全局完全保守不变位点。Tca: *Tribolium castaneum*; Csep: *Coccinella septempunctata*; Hvi: *Henosepilachna vigintioctopunctata*; Agl: *Anoplophora glabripennis*; Led: *Leptinotarsa decemlineata*; Sor: *Sitophilus oryzae*; Ppy: *Photinus pyralis*; Dme: *Drosophila melanogaster*; Zcu: *Zeugodacus cucurbitae*; Mdo: *Musca domestica*; Bmo: *Bombyx mori*; Sfru: *Spodoptera frugiperda*; Nlug: *Nilaparvata lugen*; Api: *Acyrthosiphon pisum*. Light blue background: Completely conserved hydrophobic amino acids; magenta background: conserved charged amino acids; black background: completely conserved residues.

图1 异色瓢虫与其他14种昆虫Scalloped蛋白的氨基酸序列比对

Fig. 1 Amino acid sequence alignment of Scalloped proteins from *Harmonia axyridis* and 14 other insect species

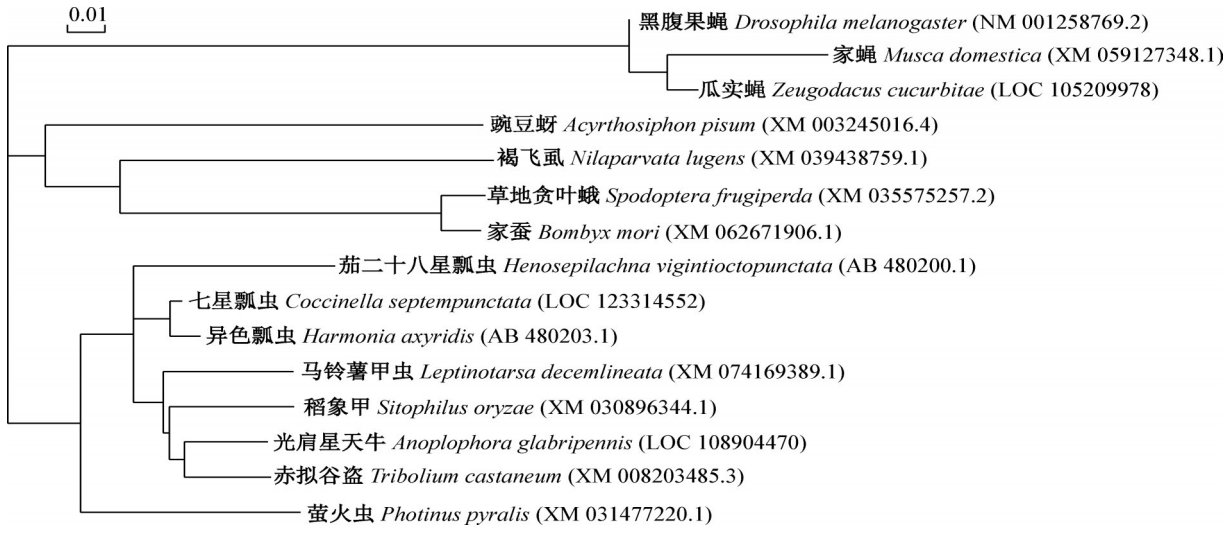


图2　基于氨基酸序列采用最大似然法构建异色瓢虫与其他14种昆虫Scalloped蛋白的系统发育树

Fig. 2　Maximum-likelihood phylogenetic tree of Scalloped proteins from *Harmonia axyridis* and 14 other insect species based on amino acid sequences



Dmesd、*Mdosd*、*Zcusd*、*Apisd*、*Nlugsd*、*Sfrusd*、*Bmosd*、*Hvisd*、*Csepsd*、*Sorsd*、*Haxsd*、*Ppysd*、*Ledsd*、*Aglsd*、*Tcasd*：黑腹果蝇、家蝇、瓜实蝇、豌豆蚜、褐飞虱、草地贪夜蛾、家蚕、茄二十八星瓢虫、七星瓢虫、异色瓢虫、萤火虫、稻象甲、马铃薯甲虫、光肩星天牛、赤拟谷盗的*Scalloped*基因。*Dmesd*, *Mdosd*, *Zcusd*, *Apisd*, *Nlugsd*, *Sfrusd*, *Bmosd*, *Hvisd*, *Csepsd*, *Sorsd*, *Haxsd*, *Ppysd*, *Ledsd*, *Aglsd*, and *Tcasd*: Represent the *Scalloped* genes of *Drosophila melanogaster*, *Musca domestica*, *Zeugodacus cucurbitae*, *Acyrthosiphon pisum*, *Nilaparvata lugens*, *Spodoptera frugiperda*, *Bombyx mori*, *Henosepilachna vigintioctopunctata*, *Coccinella septempunctata*, *Sitophilus oryzae*, *Harmonia axyridis*, *Photinus pyralis*, *Leptinotarsa decemlineata*, *Anoplophora glabripennis*, and *Tribolium castaneum*, respectively.

图3　异色瓢虫与其他14种昆虫的*Scalloped*基因的外显子–内含子结构图

Fig. 3　Exon-intron structures of the *Scalloped* gene in *Harmonia axyridis* and 14 other insect species

3　讨论

Scalloped是Hippo信号通路下游重要的转录因子，主要与Yorkie等转录辅助因子形成复合物，从而参与调控细胞增殖、凋亡及器官（Wu et al.，2008；陈诚等，2016）。不同昆虫*Scalloped*基因编码的蛋白均含有较保守的DNA结合区域和转录辅助因子结合区域，表明其基本转录调控功能在昆虫进化过程中具有较强的保守性（Zhang et al.，2022）。本研究结果显示异色瓢虫Scalloped蛋白与其他鞘翅目昆虫同源蛋白具有较高的序列相似性，且与七星瓢虫、茄二十八星瓢虫等瓢虫科昆虫表现出较近的亲缘关系，与昆虫传统分类地位基本一致。不同昆虫类群*Scalloped*基因的外显子数量、内含子长度及排列方

式存在一定差异，这可能与物种分化过程中的基因组结构变异及转录调控方式有关。异色瓢虫具有高度角质化的前翅和膜质后翅，其翅结构与双翅目昆虫有明显差异，因此，*Scalloped*基因的核心分子功能虽然较保守，但其下游靶基因及对不同翅型的调控方式可能有一定的物种特异性（Tomoyasu，2021）。

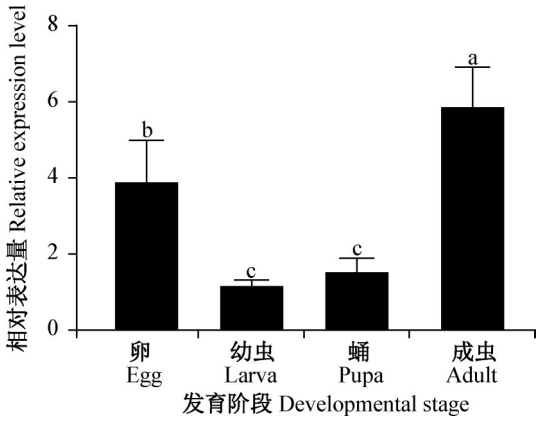


图4 异色瓢虫不同发育阶段内*Scalloped*基因的相对表达量

Fig. 4 Relative expression levels of the *Scalloped* gene in *Harmonia axyridis* at different developmental stages

图中数据为平均数±标准差。不同字母表示经Duncan氏新复极差法检验差异显著（$P<0.05$）。Data are mean±SD. Different letters above the bars indicate significant difference according to Duncan's new multiple range test ($P<0.05$).

本研究结果显示*Scalloped*基因在异色瓢虫不同发育阶段均有表达，表明其功能可能贯穿胚胎发育、幼虫生长、蛹组织重塑及成虫组织功能维持等多个过程。Hippo信号通路广泛参与细胞增殖、组织分区及器官稳态调控，推测*Scalloped*基因在卵期的表达可能与胚胎细胞快速分裂、附肢原基形成及早期组织建成有关（Yu et al.，2025）。Halder et al.（1998）和Delanoue et al.（2004）研究认为*Scalloped*基因在果蝇翅成虫盘增殖和翅形态形成中具有重要作用；本研究结果显示*Scalloped*基因在异色瓢虫成虫期整体表达水平较高，表明该基因的功能并不限于蛹期翅组织建成，可能与翅结构成熟、飞行肌功能及成虫其他组织的稳态维持有关。不同昆虫中*Scalloped*基因表达高峰期不完全一致。例如，赤拟谷盗中*Scalloped*基因在整个生活史持续表达，但幼虫期与预蛹期转录丰度显著高于成虫（Minakuchi et al.，2015）；家蚕*Bombyx mori*中*Scalloped*基因仅在幼虫游走阶段达到峰值，成虫期转录水平显著下调（Yin et al.，2020）；烟草甲*Lasioderma serricorne*中*Scalloped*基因表达峰值集中在蛹期（Zhang et al.，2022），这种差异可能与物种生物学特性、取样组织、发育阶段划分及检测材料有关。

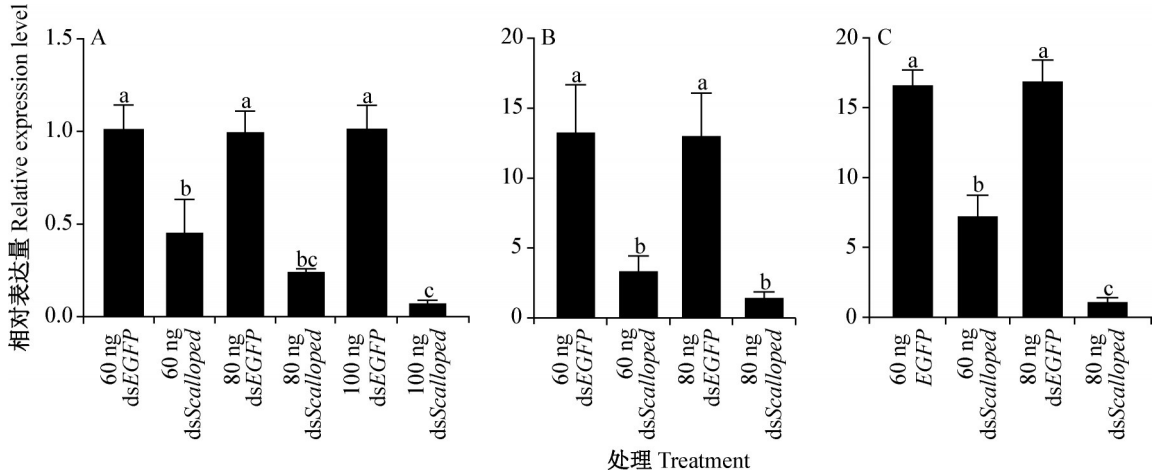


图5 注射不同量ds*Scalloped*后异色瓢虫幼虫期（A）、蛹期（B）和成虫期（C）*Scalloped*基因的相对表达量

Fig. 5 Relative expression levels of the *Scalloped* gene in larvae (A), pupae (B) and adults (C) of *Harmonia axyridis* after injection with different doses of ds*Scalloped*

图中数据为平均数±标准差。不同字母表示经Duncan氏新复极差法检验差异显著（$P<0.05$）。Data are mean±SD. Different letters above the bars indicate significant difference according to Duncan's new multiple range test ($P<0.05$).

RNA干扰技术已广泛用于鞘翅目昆虫功能基因研究中，但不同物种对外源dsRNA的敏感性及沉默持续时间存在明显差异（Zhu & Palli，2020）。赤拟谷盗、玉米根叶甲*Diabrotica virgifera*等鞘翅目昆虫通常表现出较强的系统性RNA干扰反应，因此外源dsRNA在体内能形成较持久的基因沉默（Baum et al.，2007；Tomoyasu et al.，2008；Horn et al.，2022）；部分鳞翅目和半翅目昆虫常因dsRNA降解

速度较快或细胞摄取效率较低而表现出较弱的干扰效应(Zhu & Palli, 2020)。本研究结果显示异色瓢虫3龄幼虫进行dsRNA处理后，目的基因的抑制效应能延续至后续发育阶段，表明该虫对外源dsRNA有较好的应答能力。不同dsRNA剂量产生的生物学效应存在差异，因此dsRNA剂量需要在基因沉默效率、试虫存活及目标表型之间保持适当平衡。目的基因不同程度的表达抑制往往可产生由轻度形态异常到发育停滞或死亡的连续表型，这可能与不同组织和生理过程对目的基因表达量的最低需求有关(Cao et al., 2018; Rodrigues et al., 2018)。翅组织在蛹期需要经历快速细胞增殖和大规模形态重塑，因此可能对*Scalloped*表达水平较敏感，所以在部分沉默条件下即可首先表现为翅发育异常(Zhou et al., 2024; El Marzkioui et al., 2025)；当基因表达受到更强烈的抑制时，肌肉发育、组织重构及变态过程可能同时受到影响，进而造成化蛹或羽化障碍(Ohde et al., 2009)。因此，RNA干扰反应剂量的有效性不能仅依据目的基因沉默效率判断，还需综合考虑试虫存活率、变态进程及目标表型的稳定性。适宜的干扰强度既应保证目的基因受到有效抑制，又应尽可能避免因过度沉默而掩盖其特异性功能。

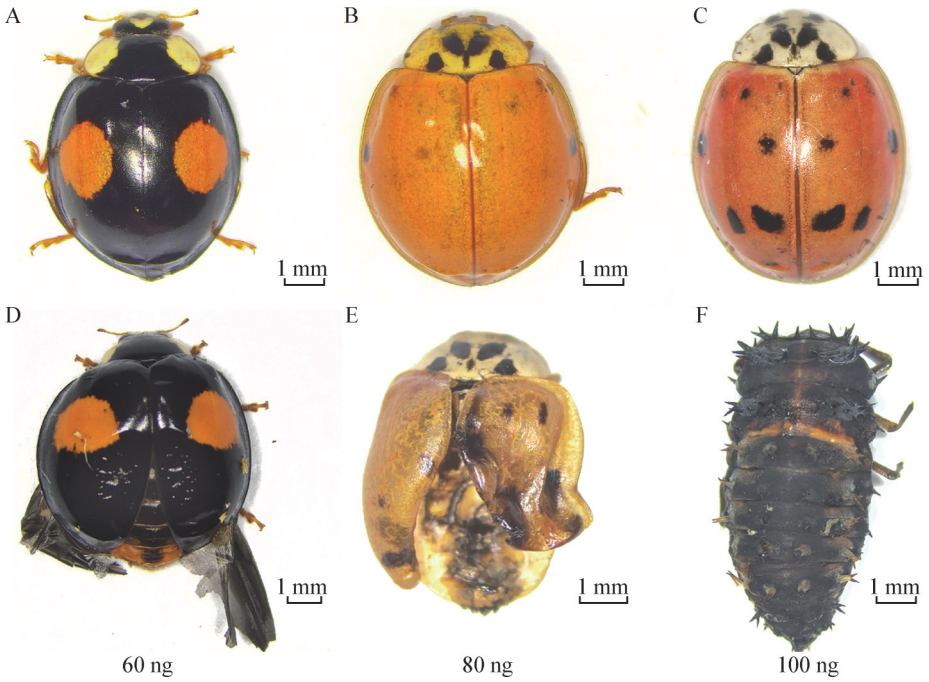


图6　注射不同剂量ds*EGFP*(A~C)和ds*Scalloped*(D~F)后异色瓢虫的羽化情况

Fig. 6　Adult emergence of *Harmonia axyridis* following injection with different doses of ds*EGFP* (A–C) and ds*Scalloped* (D–F)

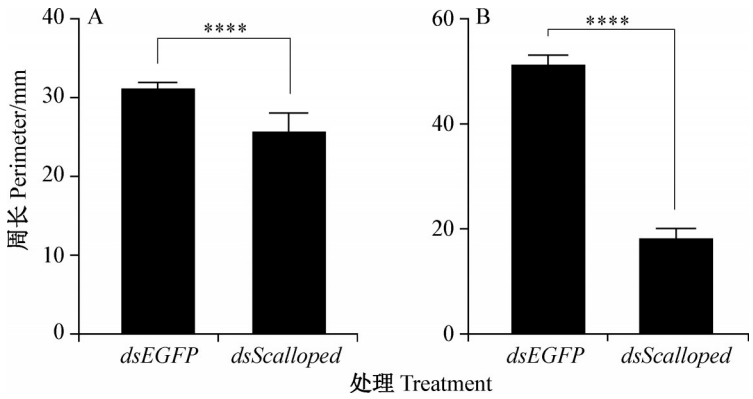
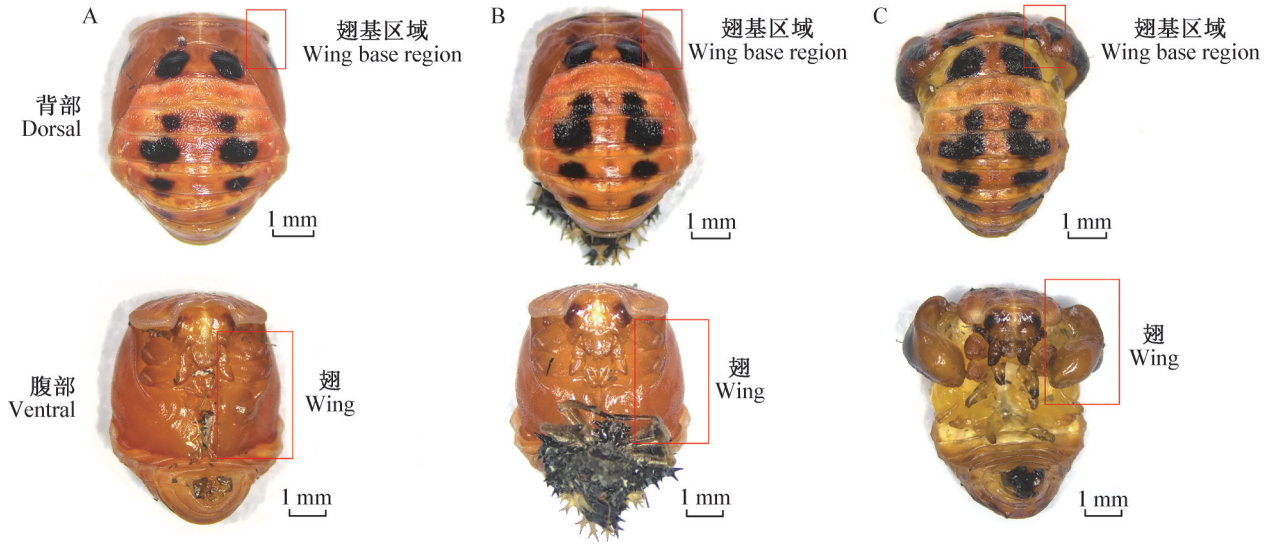


图7　注射80 ng ds*Scalloped*和ds*EGFP*后异色瓢虫成虫前翅(A)和后翅(B)的周长

Fig. 7　Forewing (A) and hindwing (B) perimeters of adult *Harmonia axyridis* following injection with 80 ng ds*Scalloped* or ds*EGFP*

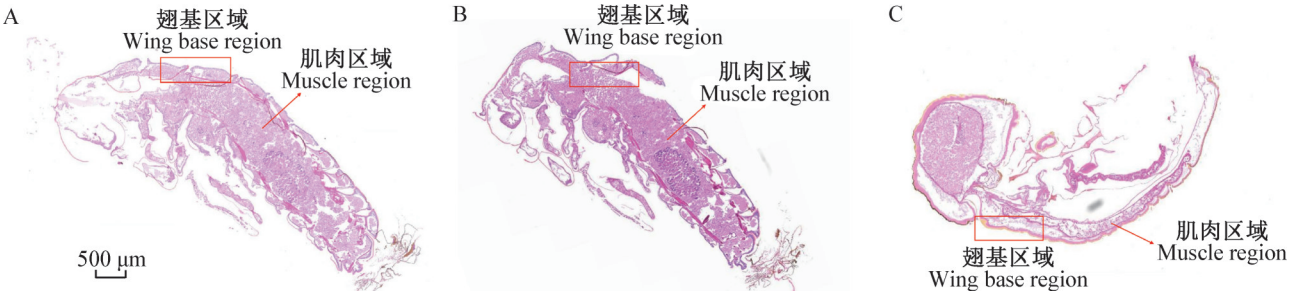
图中数据为平均数±标准差。****表示两个处理之间独立样本*t*检验法检验差异显著(P<0.000 1)。Data are mean±SD. **** indicates a highly significant difference between the two treatments according to an independent-samples *t* test (P<0.000 1).



A：空白对照；B：注射 80 ng ds*EGFP*（阴性对照）；C：注射 80 ng ds*Scalloped*。A: Untreated control; B: injection with 80 ng ds*EGFP* (negative control); C: injection with 80 ng ds*Scalloped*.

图8 不同处理后异色瓢虫蛹翅和翅基的表型图

Fig. 8 Phenotypes of pupal wing and wing bases of *Harmonia axyridis* following different treatments



A：空白对照；B：注射 80 ng ds*EGFP*（阴性对照）；C：注射 80 ng ds*Scalloped*。A: Untreated control; B: injection with 80 ng ds*EGFP* (negative control); C: injection with 80 ng ds*Scalloped*.

图9 异色瓢虫蛹期石蜡切片微观图

Fig. 9 Representative paraffin sections of *Harmonia axyridis* pupae

Scalloped 基因对昆虫翅发育的调控作用已在多种昆虫中证实。在黑腹果蝇中沉默 *Scalloped* 基因导致翅成虫盘细胞增殖不足、翅面积减小及翅缘缺刻（Halder et al.，1998；Delanoue et al.，2004）；在赤拟谷盗中沉默 *Scalloped* 基因同样会影响翅的正常延伸和成虫翅形态（Minakuchi et al.，2015）。本研究结果显示沉默 *Scalloped* 基因后异色瓢虫翅发育异常，表明 *Scalloped* 在鞘翅目昆虫翅组织生长和形态建成中同样发挥着重要作用，与已有研究结果一致。Scalloped 与 Yorkie 形成转录复合物后，可调控细胞周期及抗凋亡相关基因的转录（Goulev et al.，2008；Wu et al.，2008）。当其功能被抑制后，翅原基细胞增殖与凋亡之间的平衡可能被破坏，导致细胞数量不足及组织扩展受限，进而影响翅的正常大小和形态。此外，*Scalloped* 基因还可能参与完全变态过程中多种组织的协调重建。在茄二十八星瓢虫中沉默 *Scalloped* 基因可引起蛹期蜕皮异常，在赤拟谷盗中沉默该基因也会造成幼虫发育受阻及变态异常，表明 *Scalloped* 基因作用并不局限于翅组织生长和形成（Ohde et al.，2009；Minakuchi et al.，2015）。完全变态昆虫在蛹期需要完成幼虫组织降解、成虫原基增殖分化以及肌肉系统重建，任何环节发生异常均可能影响其正常蜕皮和羽化（Rolff et al.，2019）。因此，沉默 *Scalloped* 基因可能破坏不同组织之间的发育协调，最终表现为变态过程受阻（Wu et al.，2008）。不同昆虫中 *Scalloped* 沉默造成的发育异常程度并不完全一致，这可能与处理时期、沉默效率、物种发育特性及不同组织对 *Scalloped* 的依赖程度有关。

完全变态昆虫的蛹期是成虫翅结构形成的关键

阶段，翅原基在此期间经历细胞增殖、组织伸展、表皮分化及角质层沉积等一系列变化（Zhou et al.，2024）。目前关于*Scalloped*基因功能的研究多依据成虫翅表型来判断，而对异常表型发生的具体时期关注较少。本研究结果显示异色瓢虫在蛹期即出现翅基形态异常，说明成虫翅缺陷可能主要始于蛹期翅组织生长和重塑阶段，而非单纯由羽化后翅片展开失败造成的。Simmonds et al.（1998）和Goulev et al.（2008）研究结果显示果蝇翅成虫盘中*Scalloped*基因可促进组织增殖和扩展，表明*Scalloped*基因可能在翅形态建成的早期阶段即发挥调控作用，与本研究结果一致。此外，昆虫飞行功能不仅取决于翅片面积和形态，还与翅基及胸部肌肉的结构完整性密切相关。TEAD家族转录因子可与Mef2等肌肉调控因子协同作用，参与肌细胞分化及肌肉特异性基因表达（Hua et al.，2009；Pon & Marra，2016）。本研究结果显示沉默*Scalloped*基因后异色瓢虫翅基肌肉组织异常，表明*Scalloped*基因还可能参与飞行肌或翅基相关肌群的形成和维持。因此，沉默*Scalloped*基因后异色瓢虫的飞行障碍可能并非单纯由翅尺寸减小或翅片皱缩引起，而是翅形态异常与翅基肌肉发育受损共同作用的结果。

综上，异色瓢虫*Scalloped*基因在结构和进化上具有较高保守性，其参与翅组织生长和变态发育；沉默*Scalloped*基因不仅影响异色瓢虫鞘化前翅和膜质后翅的形态建成，还伴随翅基肌肉组织异常，表明该基因可能参与翅片与肌肉系统的协同发育。本研究仅从基因表达、外部表型及组织结构层面分析了*Scalloped*基因的功能，后续可结合组织特异性表达和关键下游基因验证，进一步解析其调控异色瓢虫翅发育的分子机制。

参 考 文 献（References）

Baum JA, Bogaert T, Clinton W, Heck GR, Feldmann P, Ilagan O, Johnson S, Plaetinck G, Munyikwa T, Pleau M, et al., 2007. Control of coleopteran insect pests through RNA interference[J]. Nature Biotechnology, 25(11): 1322–1326

Black BL, Olson EN, 1998. Transcriptional control of muscle development by myocyte enhancer factor-2 (mef2) proteins[J]. Annual Review of Cell and Developmental Biology, 14: 167–196

Cai ZP, Zhang XR, Xiao YL, Zhang JP, Ge F, 2024. Functional response and predation preference of multicolored Asian lady beetle *Harmonia axyridis* to two aphids in the micro-landscape of apple and Monnier's snowparsley *Cnidium monnieri*[J]. Journal of Plant Protection, 51(1): 96–105 (in Chinese) [蔡志平, 张兴瑞, 肖云丽, 张建萍, 戈峰, 2024. 异色瓢虫对苹果–蛇床草微景观中两种蚜虫的捕食功能反应及选择偏好性[J]. 植物保护学报, 51(1): 96–105]

Cao M, Gatehouse JA, Fitches EC, 2018. A systematic study of RNAi effects and dsRNA stability in *Tribolium castaneum* and *Acyrthosiphon pisum*, following injection and ingestion of analogous dsRNAs[J]. International Journal of Molecular Sciences, 19(4): 1079

Chen C, Gong CY, Wang RY, Song CN, Xu HF, 2016. Research summary on the hippo signaling pathway in insects[J]. Science of Sericulture, 42(1): 152–161 (in Chinese) [陈诚, 龚椿营, 王日远, 宋春暖, 徐汉福, 2016. 昆虫Hippo信号通路研究概述[J]. 蚕业科学, 42(1): 152–161]

Davis JR, Tapon N, 2019. Hippo signalling during development[J]. Development, 146(18): dev167106

Delanoue R, Legent K, Godefroy N, Flagiello D, Dutriaux A, Vaudin P, Becker JL, Silber J, 2004. The *Drosophila* wing differentiation factor vestigial-scalloped is required for cell proliferation and cell survival at the dorso-ventral boundary of the wing imaginal disc[J]. Cell Death and Differentiation, 11(1): 110–122

El Marzkioui K, Gaugué I, de Giorgio E, Anguille C, Léopold P, Boulan L, 2025. A switch to non-proliferative growth sustains *Drosophila* wing development during the early pupal stage[J]. Current Biology, 35(16): 4043–4049

Fu MY, Chen P, Dai FY, Lu C, Tong XL, 2014. Advances in the genes associated with the development of ventral limbs in insects[J]. Acta Entomologica Sinica, 57(8): 962–968 (in Chinese) [付明月, 陈鹏, 代方银, 鲁成, 童晓玲, 2014. 昆虫腹肢发育相关基因的研究进展[J]. 昆虫学报, 57(8): 962–968]

Goulev Y, Fauny JD, Gonzalez-Marti B, Flagiello D, Silber J, Zider A, 2008. SCALLOPED interacts with YORKIE, the nuclear effector of the hippo tumor-suppressor pathway in *Drosophila*[J]. Current Biology, 18(6): 435–441

Halder G, Polaczyk P, Kraus ME, Hudson A, Kim J, Laughon A, Carroll S, 1998. The Vestigial and Scalloped proteins act together to directly regulate wing-specific gene expression in *Drosophila*[J]. Genes & Development, 12(24): 3900–3909

Han ZL, Tan XL, Chen JL, 2017. Effect of environmental temperature variations on flight and locomotory behavior of *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae)[J]. Chinese Journal of Biological Control, 33(4): 433–441 (in Chinese) [韩宗礼, 谭晓玲, 陈巨莲, 2017. 环境温度变化对异色瓢虫的飞行与运动能力的影响[J]. 中国生物防治学报, 33(4): 433–441]

Horn T, Narov KD, Panfilio KA, 2022. Persistent parental RNAi in the beetle *Tribolium castaneum* involves maternal transmission of long double-stranded RNA[J]. Advanced Genetics, 3(3): 2100064

Hua D, Hughes SC, Bell JB, Simmonds AJ, 2009. Alternative requirements for *Vestigial*, *Scalloped*, and *Dmef2* during muscle differentiation in *Drosophila melanogaster*[J]. Molecular Biology of the Cell, 20(1): 256–269

Huang JB, Wu SA, Barrera J, Matthews K, Pan DJ, 2005. The Hippo signaling pathway coordinately regulates cell proliferation and apoptosis by inactivating Yorkie, the *Drosophila* homolog of YAP[J].

Cell, 122(3): 421–434

Jeffries DL, Chapman J, Roy HE, Humphries S, Harrington R, Brown PM, Handley LJ, 2013. Characteristics and drivers of high-altitude ladybird flight: insights from vertical-looking entomological radar[J]. PLoS ONE, 8(12): e82278

Minakuchi C, Ohde T, Miura K, Tanaka T, Niimi T, 2015. Role of scalloped in the post-embryonic development of the red flour beetle *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) [J]. Applied Entomology and Zoology, 50(1): 17–26

Ohde T, Masumoto M, Morita-Miwa M, Matsuura H, Yoshioka H, Yaginuma T, Niimi T, 2009. *Vestigial* and *scalloped* in the ladybird beetle: a conserved function in wing development and a novel function in pupal ecdysis[J]. Insect Molecular Biology, 18(5): 571–581

Paumard-Rigal S, Zider A, Vaudin P, Silber J, 1998. Specific interactions between vestigial and scalloped are required to promote wing tissue proliferation in *Drosophila melanogaster*[J]. Development Genes and Evolution, 208(8): 440–446

Pon JR, Marra MA, 2016. *MEF2* transcription factors: developmental regulators and emerging cancer genes[J]. Oncotarget, 7(3): 2297–2312

Rodrigues TB, Duan JJ, Palli SR, Rieske LK, 2018. Identification of highly effective target genes for RNAi-mediated control of emerald ash borer, *Agrilus planipennis*[J]. Scientific Reports, 8(1): 5020

Rolff J, Johnston PR, Reynolds S, 2019. Complete metamorphosis of insects[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences, 374(1783): 20190063

Shu ZQ, Deng WM, 2017. Differential regulation of *cyclin E* by Yorkie-*scalloped* signaling in organ development[J]. G3, 7(3): 1049–1060

Simmonds AJ, Liu X, Soanes KH, Krause HM, Irvine KD, Bell JB, 1998. Molecular interactions between Vestigial and Scalloped promote wing formation in *Drosophila*[J]. Genes & Development, 12(24): 3815–3820

Srivastava A, Bell JB, 2003. Further developmental roles of the Vestigial/Scalloped transcription complex during wing development in *Drosophila melanogaster*[J]. Mechanisms of Development, 120(5): 587–596

Sun SG, Wu SA, Zhang L, 2017. The discovery and expansion of Hippo signaling pathway in *Drosophila* model[J]. Hereditas, 39(7): 537–545 [(in Chinese) [孙书国, 吴世安, 张雷, 2017. Hippo信号通路在果蝇遗传学研究中的发现与扩展[J]. 遗传, 39(7): 537–545]

Tomoyasu Y, 2021. What crustaceans can tell us about the evolution of insect wings and other morphologically novel structures[J]. Current Opinion in Genetics & Development, 69: 48-55

Tomoyasu Y, Miller SC, Tomita S, Schoppmeier M, Grossmann D, Bucher G, 2008. Exploring systemic RNA interference in insects: a genome-wide survey for RNAi genes in *Tribolium*[J]. Genome Biology, 9(1): R10

Wang QQ, Zhang WG, Tian T, Wang XY, Zhou CG, Yin SY, 2019. Predation of *Cinara cedri* by *Harmonia axyridis*[J]. Journal of Plant Protection, 46(2): 458–464 (in Chinese) [王倩倩, 张卫光, 田恬, 王晓艺, 周成刚, 尹淑艳, 2019. 异色瓢虫对雪松长足大蚜的捕食作用[J]. 植物保护学报, 46(2): 458–464]

Wang S, Zhang RZ, Zhang F, 2007. Research progress on biology and ecology of *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera: Coccinellidae) [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 18(9): 2117–2126 (in Chinese) [王甦, 张润志, 张帆, 2007. 异色瓢虫生物生态学研究进展[J]. 应用生态学报, 18(9): 2117–2126]

Wu SA, Liu Y, Zheng YG, Dong JX, Pan DJ, 2008. The TEAD/TEF family protein Scalloped mediates transcriptional output of the Hippo growth-regulatory pathway[J]. Developmental Cell, 14(3): 388–398

Wu YW, Zheng LH, Gao P, Shi WQ, Wang Y, Kang J, Li QY, Xu WJ, 2022. Research progress on bioecology and application of *Harmonia axyridis*[J]. Heilongjiang Agricultural Sciences(10): 109–114 (in Chinese) [吴钰薇, 郑林浩, 高鹏, 石文倩, 王昱, 康健, 李启云, 徐文静, 2022. 异色瓢虫生物生态学及其应用研究进展[J]. 黑龙江农业科学(10): 109–114]

Yang GQ, Fan W, Zhang Q, Li M, Jiang ZX, Duan P, Hu CX, Chen GH, Zhang XM, 2022. Predatory function of *Harmonia axyridis* and *Propylea japonica* larvae to young larvae of *Tuta absoluta*[J]. Chinese Journal of Biological Control, 38(4): 959–966 (in Chinese) [杨桂群, 范苇, 张倩, 李貌, 蒋正雄, 段盼, 胡昌雄, 陈国华, 张晓明, 2022. 异色瓢虫和龟纹瓢虫幼虫对番茄潜叶蛾低龄幼虫的捕食功能反应[J]. 中国生物防治学报, 38(4): 959–966]

Yin J, Zhang J, Li T, Sun X, Qin S, Hou CX, Zhang GZ, Li MW, 2020. BmSd gene regulates the silkworm wing size by affecting the Hippo pathway[J]. Insect Science, 27(4): 655–664

Yu X, Sun B, Gao XQ, Liu QX, Zhou ZZ, Zhao YH, 2025. miR-927 regulates insect wing development by targeting the Hippo pathway[J]. Insect Science, 32(3): 767–778

Zhang Y, Yang JP, Dai RH, Yang WJ, Zhang XM, 2022. Immune function analysis of *LsSd*, a transcription factor of the Hippo signaling pathway, in the cigarette beetle *Lasioderma serricorne*[J]. Frontiers in Physiology, 13: 1042897

Zhao B, Tumaneng K, Guan KL, 2011. The Hippo pathway in organ size control, tissue regeneration and stem cell self-renewal[J]. Nature Cell Biology, 13(8): 877–883

Zhou H, Shu RG, Zhang CW, Xiao YQ, Jing D, Tang JJ, Cao ZX, Chen X, Mei Y, Li F, 2024. Developmental correspondence of juvenile stages across the locust, harlequin ladybird, and diamondback moth[J]. iScience, 27(10): 110898

Zhu KY, Palli SR, 2020. Mechanisms, applications, and challenges of insect RNA interference[J]. Annual Review of Entomology, 65: 293–311

（责任编辑：张俊芳）