



昆虫滞育表观遗传调控的研究进展

安颢敏, 刘文, 王小平*

(华中农业大学植物科学技术学院, 昆虫资源利用与害虫可持续治理湖北省重点实验室, 武汉 430070)

摘要: 滞育是昆虫躲避不良环境的一种策略, 对延续昆虫种群具有重要意义。特别是昆虫的兼性滞育, 能够受环境的周期性季节变化影响, 表观遗传可能在其中扮演重要角色。表观遗传是不依赖 DNA 序列改变所产生的可遗传变异, 包括 DNA、RNA、蛋白质和染色质水平上的各种表观遗传调控过程, 可能参与生物的发育可塑性。昆虫滞育表观遗传调控主要包括两个方面: 一是表观遗传调控如何响应滞育诱导的环境信号; 二是环境信号诱导的表观遗传调控如何作用昆虫滞育。尽管已有报道提示 DNA 甲基化可以响应光周期信号, 组蛋白乙酰化能够耦联昆虫内分泌信号, 但表观遗传调控参与昆虫滞育的具体机制尚不完全清楚。表观遗传调控昆虫滞育在不同滞育类型的昆虫中都有报道。对于同一滞育类型, 不同表观遗传过程之间可能存在协同, 这种协同作用如何响应环境信号, 又如何精确调节昆虫滞育仍不得而知。总之, 现有研究仅仅展示了表观遗传调控昆虫滞育的可能性, 昆虫滞育表观遗传调控的分子机制亟待深入研究, 特别是以下几个方面: (1) 表观遗传响应滞育诱导环境信号的分子机制研究; (2) 表观遗传耦联内分泌调控的分子机制研究; (3) 介导表观遗传调控的细胞信号转导研究; (4) 表观遗传的协同调控在昆虫滞育中的功能研究。

关键词: 昆虫; 滞育; 表观遗传调控; DNA 甲基化; 翻译后修饰; 小非编码 RNA

中图分类号: Q965 **文献标识码:** A **文章编号:** 0454-6296(2021)04-0510-13

Advances and perspectives of epigenetic regulation of insect diapause

AN Hao-Min, LIU Wen, WANG Xiao-Ping* (Hubei Key Laboratory of Insect Resources Utilization and Sustainable Pest Management, College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: Diapause is a strategy for insect to avoid harsh environment, and has a great significance for continuation of insect population. In particular, facultative diapause can be affected by periodic seasonal changes, in which epigenetics may play critical roles. Epigenetics refers to heritable variations independent of DNA sequence, including various modifications at DNA, RNA, protein and chromatin levels, and may be involved in development plasticity. The research of epigenetic regulation of insect diapause mainly focuses on two aspects: one is how epigenetic regulation respond to environmental signals, and the other is how environmental signal induces epigenetic regulation in insect diapause. Although it has been reported that DNA methylation can respond to photoperiodic signal and histone acetylation can be coupled with endocrine systems, the detail mechanisms of epigenetic regulations of insect diapause, however, are not completely revealed. Regulations of diapause induced by epigenetics have been reported in multiple types of insect diapause. For the same diapause process, there may be co-regulation between different epigenetic mechanisms. However, how this synergy responds to environmental signals and how it precisely regulates insect diapause are still unknown. In conclusion, the previous research only indicated the possibility of epigenetic regulation in insect diapause, but the

基金项目: 国家自然科学基金项目(31972268, 31701842); 湖北省自然科学基金创新群体(2019CFA017)

作者简介: 安颢敏, 男, 1994 年 9 月生, 山西朔州人, 博士研究生, 研究方向为昆虫生理与分子生物学, E-mail: ahm1994@126.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: xpwang@mail.hzau.edu.cn

收稿日期 Received: 2020-10-06; 接受日期 Accepted: 2020-11-28

molecular mechanisms are scarcely known and need further study. Especially the following aspects might be critical in the future research: the molecular mechanism of epigenetics responding to diapause-induced environmental signals, the molecular mechanism of epigenetics coupled with endocrine regulation, the cell signal transduction of epigenetic regulation, and the synergetic regulation of epigenetics in insect diapause.

Key words: Insects; diapause; epigenetic regulation; DNA methylation; post-translation modification; small non-coding RNA

周期性的季节变化驱动生物在长期进化过程中形成休眠(dormancy)等现象(Guppy and Withers, 1999; Lennon and Jones, 2011)。生物在休眠期一般具有更强的环境耐受性,能够在恶劣环境中延续种群。休眠表型的形成往往需要环境信号的诱导(Boon *et al.*, 2001; Lennon and Jones, 2011)。表观遗传(epigenetics)可能参与生物休眠调节(Shu *et al.*, 2016; Rossari *et al.*, 2020)。在植物种子休眠诱导期,多种表观遗传调控因子显著上调,与内源植物激素耦联调控种子休眠(Kallioo and Piironen, 1959; Sondheimer *et al.*, 1968; Liu *et al.*, 2011)。小鼠 *Mus musculus* 和秀丽隐杆线虫 *Caenorhabditis elegans* 染色质修饰水平能够响应休眠诱导信号,进而调控其休眠或滞育(Demoinet *et al.*, 2017; Hussein *et al.*, 2020)。

昆虫滞育是休眠的一种类型,是受遗传调控的一种特定的发育,一旦进入滞育需要完成滞育发育才能受温度、湿度等环境条件影响而解除滞育。昆虫滞育可分为专性滞育(obligatory diapause)和兼性滞育(facultative diapause),所有专性滞育的发生不取决于环境条件,而兼性滞育的发生需要温度、光周期等环境信号的诱导(Danks, 1987)。依据滞育发生的时期,昆虫滞育又可分为卵滞育或胚胎滞育(egg/embryonic diapause)、幼虫滞育(larval diapause)、蛹滞育(pupal diapause)、成虫滞育或生殖滞育(adult/reproductive diapause)(Danks, 1987)。滞育过程包括滞育前期(pre-diapause)、滞育期(diapause)和滞育后期(post-diapause),其中滞育前期包括滞育诱导和准备,滞育期包括滞育启动、维持和解除,滞育后期包括滞育后静止和滞育后发育(Denlinger, 2002; Košťál, 2006)。昆虫在滞育诱导期感受环境变化,其体内的胰岛素(insulin)、保幼激素(juvenile hormone, JH)和蜕皮激素(ecdysterone)等响应滞育诱导期的环境信号,调控滞育准备;昆虫在滞育准备期积累营养物质供完成滞育过程、渡过不良环境(Hahn and Denlinger, 2011)。滞育诱导和准备这两个时期深刻影响昆虫

滞育的进入与终止以及滞育后的发育和存活,是昆虫滞育机制研究的关键(Košťál, 2006; Hahn and Denlinger, 2011)。

昆虫的发育与滞育由分子水平的变化决定(Denlinger, 2002)。环境信号是诱导昆虫非遗传多型(polyphenism)现象的关键(Hartfelder and Emlen, 2005),这种环境信号诱导的生物发育可塑性与表观遗传息息相关(Glastad *et al.*, 2019)。表观遗传是不依赖DNA序列的改变所产生的可遗传的变异(Bonasio *et al.*, 2010),受到多种环境信号的调控(Rando, 2012)。表观遗传机制包括核小体定位(nucleosome positioning)、染色质重塑(chromatin remodeling)、组蛋白修饰(histone modification)、DNA甲基化(DNA methylation)、RNA可变剪接(alternative RNA splicing)、非编码RNA(noncoding RNA)、RNA修饰(RNA modification)和假基因(pseudogene)等(蔡禄, 2012; 杨莹等, 2018; Reynolds, 2019; Yao *et al.*, 2019)。在昆虫中,表观遗传可能参与其变态发育、寿命、生殖和性别决定(Suh *et al.*, 2015; Cardoso-Júnior *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018; Kirfel *et al.*, 2020; Peng *et al.*, 2020),也可能调控昆虫滞育。目前报道了昆虫DNA甲基化可以响应光周期信号(Pegoraro *et al.*, 2016; Delaney *et al.*, 2017),组蛋白乙酰化可以耦联昆虫内分泌信号(George *et al.*, 2019; George and Palli, 2020; Lyu *et al.*, 2020),可能是昆虫滞育调控的重要环节。组蛋白修饰、DNA甲基化、RNA甲基化和非编码RNA等表观遗传过程参与昆虫滞育调控已见诸报道。本文从不同类型昆虫滞育表观遗传调控的角度综述了近年来这一领域的研究进展,以期为深入开展昆虫滞育调控机制研究提供帮助。

1 卵滞育或胚胎滞育调控

昆虫卵滞育可以发生在胚胎发育的任何阶段,在直翅目、鳞翅目和双翅目昆虫中较为常见。卵滞

育分为母体分泌的滞育激素 (diapause hormone, DH) 调控和胚胎自身合成激素调控两类 (Denlinger *et al.*, 2005)。家蚕 *Bombyx mori* 分泌的滞育激素是一种神经肽, 由母体脑—咽下神经节在卵成熟期合

成并释放; DH 作用卵巢后诱导形成滞育卵 (Denlinger *et al.*, 2005)。组蛋白乙酰化、DNA 甲基化、RNA 甲基化和 miRNA 对昆虫卵滞育具有潜在的调控作用 (图 1: A)。

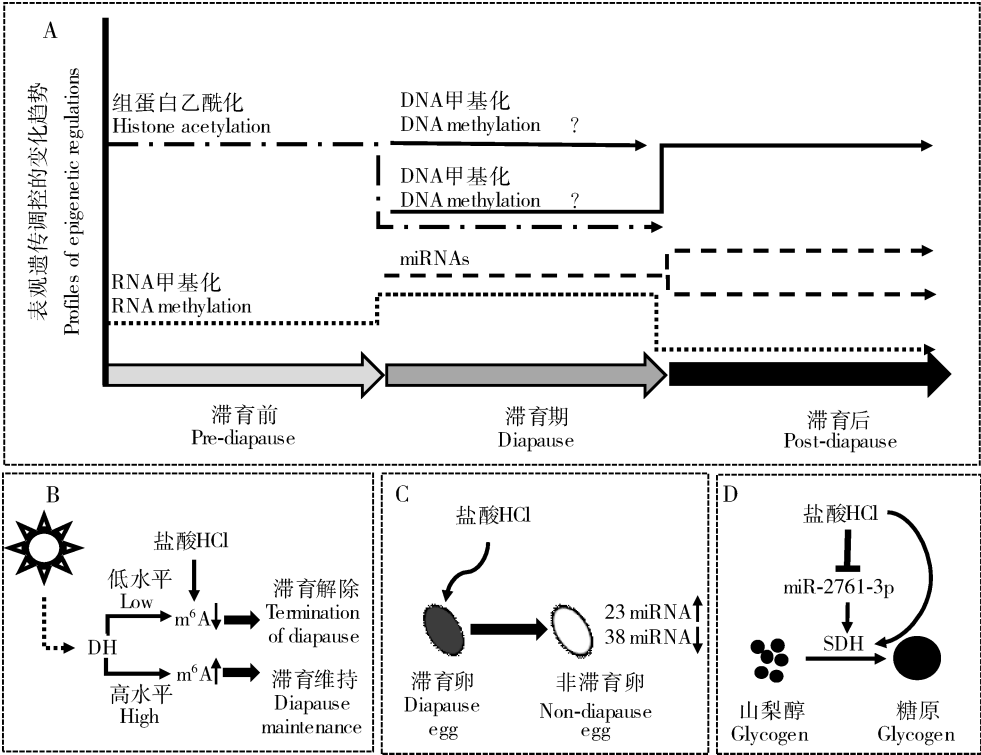


图 1 表观遗传参与昆虫卵滞育调控

Fig. 1 Epigenetics involved in regulation of insect egg diapause

A: 昆虫卵滞育涉及的表观遗传调控机制: 组蛋白乙酰化 (Reynolds and Hand, 2009); DNA 甲基化 (Sasibhushan *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2019); RNA 甲基化 (Jiang *et al.*, 2019); miRNA (Fan *et al.*, 2017)。不同线条表示不同类型的表观遗传调控机制, 线条的高度表示同种修饰类型在不同滞育时期的变化过程而非不同表观遗传调控机制之间的水平差异 (图 2 ~ 4 同)。Epigenetic regulation mechanisms involved in insect egg diapause, including histone acetylation (Reynolds and Hand, 2009), DNA methylation (Sasibhushan *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2019), RNA methylation (Jiang *et al.*, 2019), and miRNA (Fan *et al.*, 2017). Different lines indicate different types of epigenetic regulations, and the height of lines indicates change process of the same type of epigenetic regulation in different diapause periods but not the horizontal differences among different epigenetic regulations (the same for Figs. 2 ~ 4). B: 家蚕 RNA 甲基化能够响应 DH 水平, 低水平的 DH 和盐酸可以降低家蚕 RNA 甲基化水平从而解除滞育 (Jiang *et al.*, 2019)。RNA methylation in the silkworm can respond to DH level, and low levels of DH and HCl can reduce RNA methylation and relieve diapause of the silkworm (Jiang *et al.*, 2019). C: 盐酸可以解除家蚕卵滞育, 引起家蚕滞育卵中 miRNA 差异表达 (Fan *et al.*, 2017)。HCl can relieve egg diapause and cause different expression levels of miRNAs in diapause eggs of the silkworm (Fan *et al.*, 2017). D: 盐酸可能通过抑制 miR-2761-3p 活性从而激活 SDH 功能最终解除家蚕滞育 (Rubio *et al.*, 2011; Fan *et al.*, 2017)。HCl may activate the silkworm SDH by inhibiting miR-2761-3p activity, and finally relieve diapause (Rubio *et al.*, 2011; Fan *et al.*, 2017). DH: 滞育激素 Diapause hormone; SDH: 山梨醇脱氢酶 Sorbitol dehydrogenase.

组蛋白乙酰化促进异染色质向常染色质变构, 高乙酰化水平通常与转录激活有关 (Drazica *et al.*, 2016), 但也有研究发现组蛋白乙酰化水平的升高能引起基因转录的抑制。转录抑制子 Reptin 是组蛋白乙酰转移酶 Tip60 的活性亚基, 其促进组蛋白乙酰化, 但是起到基因转录抑制的作用 (Qi *et al.*, 2006)。在南方地蟋 *Allonemobius socius* 滞育前 Reptin 表达上调两倍, 进入滞育后又被显著下调 (Reynolds and Hand, 2009)。Tip60 介导的组蛋白

乙酰化可能参与抑制滞育准备相关基因的表达, 这些基因 (如脂质降解酶基因等) 的下调可能参与滞育准备期的物质积累, 在滞育维持中这些基因的转录可能被重新激活。

DNA 甲基化可能参与家蚕卵滞育调控。在家蚕滞育卵中 DNA 甲基转移酶表达水平较高, 推测其参与家蚕的卵滞育维持 (Sasibhushan *et al.*, 2013)。不过家蚕二化品系中发现 DNA 甲基转移酶基因 *BmDnmt1* 和 *BmDnmt2* 的表达可以被盐酸诱导, 而

盐酸可以解除家蚕卵滞育(Li *et al.*, 2019)。Dnmt1 和 Dnmt2 主要参与维持 DNA 甲基化(maintenance of DNA methylation)(Ooi *et al.*, 2007), 暗示高水平的 DNA 甲基化是家蚕卵滞育解除的关键。此外, 无论在何种光周期条件下饲喂 DNA 甲基转移酶抑制剂 5-氮杂胞嘧啶核苷(5-azacytidine), 都不能改变光周期对家蚕卵滞育的影响(Egi *et al.*, 2016)。DNA 甲基化对家蚕卵滞育的调控作用需要进一步明确。

RNA 修饰参与昆虫滞育调控的研究非常有限, 目前仅在家蚕卵滞育调控中有所报道。选取的 4 种不同化性品系 AK4(一化)、Qiufeng(二化)、NH(多化滞育)和 Nistari(多化非滞育)中, RNA m⁶A 甲基化相关的 Mettl3, Mettl14, Wtap/fi(2)d, Ythdc1 和 Ythdf3 基因在蛹和成虫的卵巢、头部和卵中表达模式各不相同, 表现出一定的化性相关性。相较一化和多化品系, 二化品系家蚕 RNA m⁶A 相关基因的表达更为多变, 可能一化和多化品系具有更为稳定的滞育特性, 较少受到外界因素的影响。m⁶A 相关基因在家蚕蛹和成虫期表达模式的差异表明 m⁶A 可能参与了家蚕的滞育准备; 而酸处理和低浓度的 DH 处理能够显著降低卵和 BmN(家蚕卵巢细胞)细胞的 m⁶A 水平, 暗示低水平 m⁶A 是家蚕卵滞育解除的因素之一; 而高浓度的 DH 则与高水平 m⁶A 相关, 推测高水平 m⁶A 参与家蚕的卵滞育维持(Jiang *et al.*, 2019)(图 1: B)。

miRNA 也是调控家蚕卵滞育的候选因子。相比滞育卵, 盐酸解除滞育后有 61 个 miRNA 表达模式发生了显著变化, 其中 23 个 miRNA 表达上调, 38 个下调(图 1: C), 这些 miRNA 的潜在靶基因可能参与调控蛋白质生产、加工和运输(Fan *et al.*, 2017), 可能与滞育维持分子事件相关。高通量测序结果暗示山梨醇脱氢酶(sorbitol dehydrogenase, SDH)和 Bmo-miR-2761-3p 表达负相关(Fan *et al.*, 2017), SDH 是家蚕利用山梨醇(glycogen)合成糖原的关键酶(Rubio *et al.*, 2011)。双荧光素酶报告分析显示, Bmo-miR-2761-3p 能够抑制 BmSdh 的表达; 盐酸处理后 BmSdh 表达显著上调, 而 Bmo-miR-2761-3p 显著下调(Fan *et al.*, 2017), 暗示 miR-2761-3p 对 BmSdh 的转录活性抑制是家蚕卵滞育维持期重要的分子事件(图 1: D)。

从表观遗传调控家蚕卵滞育的研究中不难发现, 多种表观遗传机制可能共同调控其滞育, 调控的时期似乎也类似。这些表观遗传调控过程发生在染色体、DNA 和 RNA 等不同水平, 在滞育调控中具有

不同的生物学功能, 可能各自发挥作用, 也可能协同调控滞育相关的核心过程, 例如 DH 的合成或靶标细胞对 DH 的响应等。目前, 关于表观遗传调节卵滞育的研究主要是相关性层面的工作, 尚缺乏功能性验证研究。因此, 哪些表观遗传调控过程在卵滞育调控中发挥关键作用仍不明确, 需要进一步深入研究。

2 幼虫滞育调控

幼虫滞育在鳞翅目昆虫中较为常见, 大多数幼虫滞育的昆虫以末龄幼虫进入滞育, 也有初龄幼虫滞育的报道(Denlinger *et al.*, 2005)。在滞育诱导条件下, 高浓度的 JH 抑制促前胸腺激素(prothoracicotropic hormone, PTTH)的释放, PTTH 缺乏导致蜕皮激素合成受阻, 从而抑制幼虫变态, 昆虫发育停滞在幼虫阶段。因此, JH 合成上调和蜕皮激素缺乏是幼虫滞育的关键(Bogus and Scheller, 1996; Denlinger *et al.*, 2005)。组蛋白乙酰化、组蛋白甲基化、DNA 甲基化、siRNA 和 miRNA 可能参与昆虫的幼虫滞育(图 2: A)。

独居采油蜂 *Tetrapedia diversipes* 是一种生活在热带的独居蜂, 一年两化, 在雨季发生的第 1 代不滞育, 旱季发生的第 2 代以 5 龄幼虫进入滞育(Santos *et al.*, 2018)。滞育期幼虫组蛋白乙酰转移酶基因 Kat7、组蛋白基因 H3 和邻近锌指模结构域蛋白 2B(bromodomain adjacent to zinc finger domain protein 2B, BAZ2B)基因表达显著上调, 而组蛋白基因 H2A 和 H2B 表达下调(Santos *et al.*, 2018)。KAT7 属于 MYST 家族, 主要催化 H4 组蛋白乙酰化修饰(Drazica *et al.*, 2016); 包含溴尿嘧啶结构域的 BAZ2B 是组蛋白乙酰化修饰的阅读器, 能够与乙酰化修饰的组蛋白发生互作, 尤以与组蛋白 H3 的互作最强(BAZ2B 与 H3 的转录活性一致也印证了这一观点)(Filippakopoulos *et al.*, 2012)。表明 KAT7 介导的 H4 乙酰化和 BAZ2B 相关的 H3 乙酰化修饰参与该蜂的幼虫滞育维持, 组蛋白乙酰化水平的升高可能伴随滞育维持期基因转录的变化, 至于究竟影响了哪些基因的表达尚需进一步研究。

丽蝇蛹集金小蜂 *Nasonia vitripennis* 的滞育受到母体调控, 以幼虫进入滞育(Saunders, 1965)。雌性丽蝇蛹集金小蜂 DNA 甲基化水平在不同的光周期条件下显著不同, 表明母体 DNA 甲基化水平能够响应环境光周期信号(图 2: B); 且无论在何种光周期

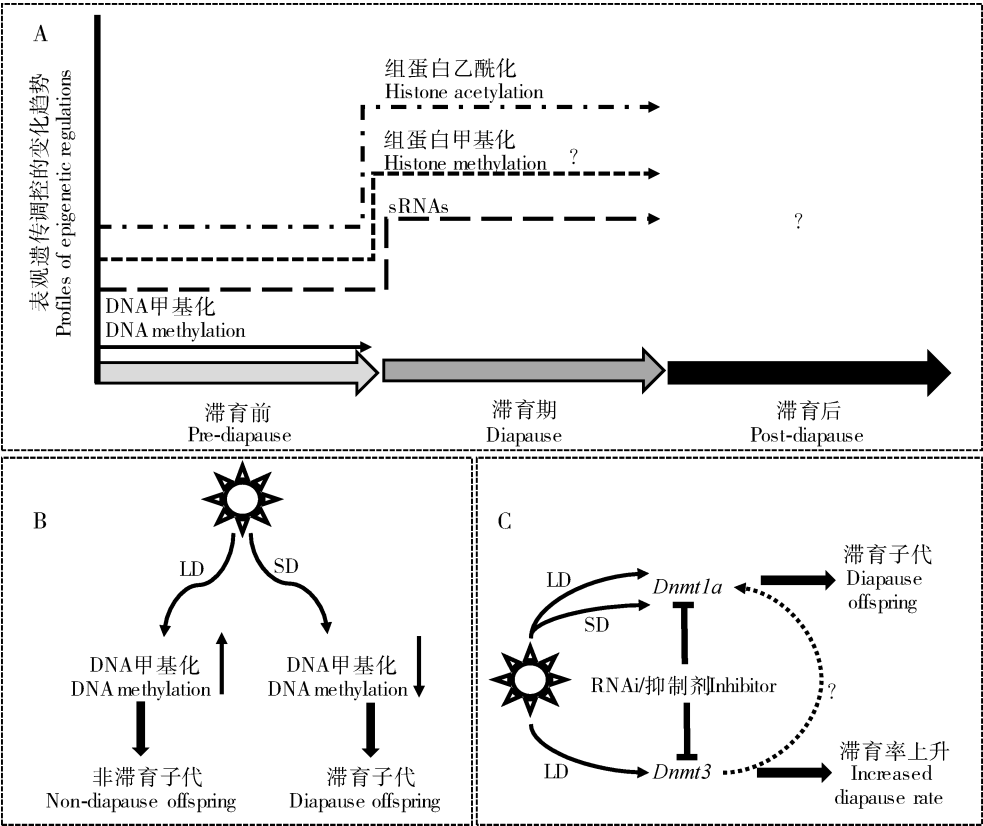


图2 表观遗传参与昆虫幼虫滞育调控

Fig. 2 Epigenetics involved in regulation of insect larval diapause

A: 昆虫幼虫滞育涉及的表观遗传调控机制:组蛋白乙酰化(Santos *et al.*, 2018);组蛋白甲基化(Poupardin *et al.*, 2015; Hůla and Košťál, 2017); DNA 甲基化(Pegoraro *et al.*, 2016);sRNAs(Poupardin *et al.*, 2015; Batz *et al.*, 2017)。Epigenetic regulation mechanisms involved in insect larval diapause, including histone acetylation (Santos *et al.*, 2018), histone methylation (Poupardin *et al.*, 2015; Hůla and Košťál, 2017), DNA methylation (Pegoraro *et al.*, 2016), and sRNAs (Poupardin *et al.*, 2015; Batz *et al.*, 2017). B: 丽蝇螫金小蜂雌蜂 DNA 甲基化水平能够响应光周期信号(Pegoraro *et al.*, 2016)。DNA methylation of female wasp of *Nasonia vitripennis* was able to respond to photoperiodic signals (Pegoraro *et al.*, 2016). C: *Dnmt1a* 介导的 DNA 维持甲基化是子代丽蝇螫金小蜂滞育的关键;而 *Dnmt3* 介导的 DNA 从头甲基化可能最先响应光周期信号的变化;但这一分子过程的具体机制尚不清晰(Pegoraro *et al.*, 2016)。Maintenance of DNA methylation mediated by *Dnmt1a* is the key to diapause of *N. vitripennis*, and *de novo* DNA methylation mediated by *Dnmt3* may be the first to respond to photoperiodic signals; however, specific mechanism of the process is still unclear (Pegoraro *et al.*, 2016). LD: 长日照 Long day; SD: 短日照 Short day.

下,通过 RNAi 干扰 DNA 甲基转移酶基因 *Dnmt1a* 或饲喂 5-氮杂胞嘧啶核苷都会诱导雌蜂产生滞育后代,敲低 *Dnmt3* 表达则会增加长光照下该蜂的滞育率(Pegoraro *et al.*, 2016)。*Dnmt3* 与从头 DNA 甲基化(*de novo* DNA methylation)相关(Ooi *et al.*, 2007),提示低水平维持 DNA 甲基化是参与丽蝇螫金小蜂滞育诱导的主要因素,而从头甲基化水平的降低可能最先响应光周期信号(图 2: C)。这是由 DNA 甲基化过程决定的,从头 DNA 甲基化不需要模板链上存在甲基化修饰,而维持甲基化需要模板链上已经存在的甲基化修饰指导(Ooi *et al.*, 2007)。

表观遗传调控因子 DPY-30, WDS 和 AGO-2 可能参与果蝇科昆虫 *Chymomyza costata* 的幼虫滞育调控(Poupardin *et al.*, 2015)。*Dpy-30* 和 *Wds* 编码组蛋白 H3K4 甲基转移酶 Set1C/COM-PASS 亚基

(Jiang *et al.*, 2011)。滞育诱导条件下,*Dpy-30* 和 *Wds* 在 *C. costata* 幼虫体内表达下调,暗示低水平 H3K4me 可能参与 *C. costata* 的滞育调控。然而,也有报道表明正常发育的幼虫 H3K4me 水平反而低于滞育幼虫(Hůla and Košťál, 2017),*Dpy-30* 和 *Wds* 介导的组蛋白甲基化调控 *C. costata* 滞育机制尚需进一步研究。*Ago-2* 与 siRNA 调控过程相关(Tomari *et al.*, 2007),在滞育诱导的短光周期条件下显著下调(Poupardin *et al.*, 2015),表明不仅组蛋白甲基化,低水平 siRNA 也参与了 *C. costata* 的滞育诱导。

miRNA 也可能参与幼虫滞育调控。滞育诱导条件下,白纹伊蚊 *Aedes albopictus* 卵母细胞 miRNA 丰度没有明显变化,表明 miRNA 并不作为跨代的表观遗传信号参与白纹伊蚊滞育诱导,而在滞育幼虫中 miRNA 丰度发生了显著变化,表明 miRNA 可能

参与白纹伊蚊的幼虫滞育维持;这些丰度发生变化的 miRNA 可能参与发育停滞、胁迫耐受、免疫应答和代谢调控,可能与白纹伊蚊滞育维持分子事件相关 (Batz *et al.*, 2017)。

表观遗传调控的最终结果是基因的程序性表达,目前的研究尚未明确表观遗传作用幼虫滞育相关靶标基因效应元件的位点和过程。与表观遗传调控家蚕卵滞育类似,不同表观遗传过程可能同时参与 *C. costata* 的幼虫滞育调控,进一步提示表观遗传调控昆虫滞育存在协同。另外,在昆虫幼虫滞育调控中并未发现表观遗传能够耦联 JH 和蜕皮激素等幼虫滞育调控的关键激素信号,因此需要进一步

拓展表观遗传响应或诱导昆虫幼虫滞育内分泌信号的研究。

3 蛹滞育调控

蛹滞育在鳞翅目和双翅目昆虫中较为常见。滞育诱导条件下 PTTH 合成受阻,PTTH 缺乏进一步降低 20-羟基蜕皮酮 (20-hydroxyecdysone, 20E) 合成,低水平的 PTTH 和 20E 是昆虫蛹滞育的内分泌基础 (Denlinger *et al.*, 2005)。表观遗传参与昆虫蛹滞育调控的研究较多,组蛋白乙酰化、组蛋白去甲基化和 miRNA 可能参与昆虫蛹滞育调控 (图 3: A)。

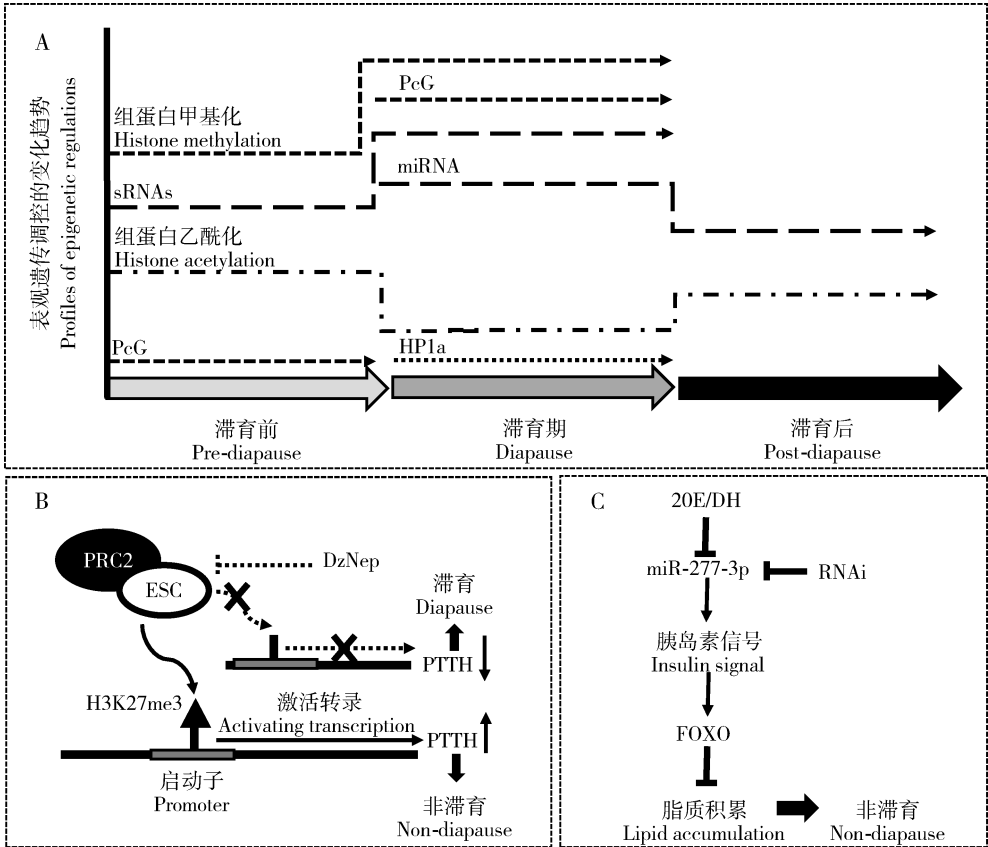


图 3 表观遗传参与昆虫蛹滞育调控

Fig. 3 Epigenetics involved in regulation of insect pupal diapause

A: 昆虫蛹滞育涉及的表观遗传调控机制:多梳蛋白家族 (PcG) (Lu *et al.*, 2013; Yocum *et al.*, 2015);异染色质蛋白 (HP1a) (Reynolds, 2017);组蛋白乙酰化 (Reynolds *et al.*, 2016);组蛋白甲基化 (Reynolds *et al.*, 2013);sRNAs (Reynolds *et al.*, 2016);miRNA (Reynolds *et al.*, 2017, 2019)。Epigenetic regulation mechanisms involved in insect pupal diapause, including polycomb group (PcG) (Lu *et al.*, 2013; Yocum *et al.*, 2015), heterochromatin protein 1a (HP1a) (Reynolds, 2017), histone acetylation (Reynolds *et al.*, 2016), histone methylation (Reynolds *et al.*, 2013), sRNAs (Reynolds *et al.*, 2016), and miRNA (Reynolds *et al.*, 2017, 2019). B: 棉铃虫 PRC2 介导 PTTH 启动子 H3K27me3 能够调节 PTTH 水平从而调控其滞育 (Lu *et al.*, 2013)。PRC2 mediated PTTH promoter H3K27me3 in *Helicoverpa armigera* can regulate PTTH level and then regulate diapause (Lu *et al.*, 2013). C: miR-277-3p 通过抑制转导到胞内的胰岛素信号抑制 FOXO 的核输出,进而促进脂质积累,最终导致美洲棉铃虫进入滞育;对 miR-277-3p 的抑制可能是蛹滞育昆虫解除滞育的关键 (Ling *et al.*, 2017; Reynolds *et al.*, 2019)。miR-277-3p inhibits nuclear output of FOXO by inhibiting insulin signal transduction into the cell, thus promoting lipid accumulation, and eventually leading to diapause in *Helicoverpa zea*; inhibition of miR-277-3p may be the key for diapause elimination of pupal diapause insects (Ling *et al.*, 2017; Reynolds *et al.*, 2019). DzNep: PRC2 抑制剂 PRC2 inhibitor; PTTH: 促前胸腺激素 Prothymocytic hormone; 20E: 20-羟基蜕皮酮 20-Hydroxyecdysone; DH: 滞育激素 Diapause hormone; RNAi: RNA 干扰 RNA interference; FOXO: O 型插头转录因子 Forkhead box O.

多梳蛋白家族 (polycomb group, PcG) 是一种转录抑制子,通过组蛋白的翻译后修饰影响染色质结构,进而沉默相关基因的表达;PcG 蛋白在进化上具有良好的保守性,主要包括两个参与不同组蛋白修饰过程的蛋白,即参与 H2AK119Ub 的 PRC1 (polycomb repressive complex 1) 和 H3K27me3 的 PRC2 (Reynolds *et al.*, 2017)。PcG 家族的功能实现需要与转录激活子三胸蛋白家族 (trithorax group, TrxG) 相互拮抗,这一过程需要组蛋白甲基化修饰的参与 (Kennison, 1995; Ringrose and Paro, 2007; Schwartz and Pirrotta, 2007)。

在棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 蛹滞育中,定位于 PTTH 神经分泌细胞的 PRC2 亚基 ESC (extra sex comb) 在非滞育蛹脑中表达高于滞育期蛹脑 (Lu *et al.*, 2013);而 PRC2 是 H3K27me3 的关键修饰调控因子 (Ringrose and Paro, 2004; Campos and Reinberg, 2009)。ESC 能够激活棉铃虫 PTTH 启动子,表明 PRC2 介导的 H3K27me3 在 PTTH 启动子上富集;向非滞育蛹注射 PRC2 抑制剂 DzNep 后, H3K27me3 水平降低,PTTH 表达下调,处理蛹表现出滞育状态,表明 PRC2 介导低水平 H3K27me3 是棉铃虫蛹滞育诱导的关键 (Lu *et al.*, 2013) (图 3: B)。在苜蓿切叶蜂 *Megachile rotundata* 蛹滞育调控中,滞育的预蛹中有 5 个上调的 PcG 家族基因,包括 *Bmi-1* (*B Lymphoma Mo-ML V Insertion Region 1*), *E (pc)* (*enhancer of polycomb*), *Psc* (*posterior sex comb*), *Asx* (*additional sex comb*) 和 *Scm* (*sex comb on midleg*) (Yocum *et al.*, 2015),暗示 PcG 参与了苜蓿切叶蜂滞育维持。此外,siRNA 相关的 *Ago-2* 基因也参与了苜蓿切叶蜂的滞育维持 (Yocum *et al.*, 2015),表明多种表观遗传修饰调控可能同时参与某一昆虫的蛹滞育过程。

表观遗传参与昆虫蛹滞育调控在麻蝇 *Sarcophaga bullata* 中的研究较为丰富。异染色质蛋白 1a (heterochromatin protein 1a, HP1a) 可能参与麻蝇的蛹滞育调控。相比非滞育蛹,滞育蛹中 *HP1a* 表达下调近 50% (Reynolds, 2017)。HP1 家族是一类保守的表观遗传调控因子,通过与 H3K9me3 互作促进异染色质结构域 (如端粒和着丝粒) 的形成;HP1 还可以结合常染色质并与其他蛋白质 (如组蛋白去甲基酶 dKDM4A) 或 RNA 互作,从而调控基因转录 (Meister *et al.*, 2011; Reynolds, 2017)。*HP1a* 的下调促进滞育蛹异染色质向常染色质变构,可能参与滞育维持相关基因的转录激活。

组蛋白 H3 乙酰化水平降低是一些物种的滞育特征 (Denlinger, 2002)。组蛋白 H3 乙酰化能够参与麻蝇的蛹滞育诱导、维持和解除,表明低水平组蛋白 H3 乙酰化可能是麻蝇蛹滞育调控的关键 (Reynolds *et al.*, 2016)。尽管总的 H3 乙酰化水平降低,但参与去乙酰化过程的相关基因 *Hdac3*, *Hdac6*, *Sirt1* 和 *Sirt2* 表达并没有明显上调 (Reynold *et al.*, 2016),因此介导滞育过程中 H3 去乙酰化的调节机制有待进一步研究。

组蛋白去甲基化可能参与麻蝇的蛹滞育调控。组蛋白去甲基化酶基因 *Lsd1* 和 *Su (var) 3-9* 在注定滞育的幼虫中分别上调 1.5 和 2 倍 (Reynolds *et al.*, 2013)。*Lsd1* 和 *Su (var) 3-9* 分别参与 H3K4 和 H3K9 的去甲基化过程 (Czermin *et al.*, 2001; Di Stefano *et al.*, 2007),表明低水平 H3K4 和 H3K9 甲基化可能参与麻蝇蛹滞育诱导。进入滞育后,相比正常发育的麻蝇,*Lsd1* 和 *Su (var) 3-9* 的表达又显著降低,表明一定水平的 H3K4 和 H3K9 甲基化可能有助于麻蝇的滞育维持。此外,miRNA 相关的 *Ago-1*, siRNA 相关的 *Ago-2* 和 *R2D2* 以及 piRNA 相关的 *Piwi* 和 *Spindle-E* 均在滞育诱导条件下显著上调,表明小 RNAs 可能参与了麻蝇蛹滞育诱导 (Reynolds *et al.*, 2013);一些 miRNA 还可以阻止麻蝇蛹进入滞育 (Reynolds *et al.*, 2017),miRNA 调控网络可能参与麻蝇的滞育决定。在麻蝇以外的多种昆虫中都发现 miRNA 参与调控蛹滞育。美洲棉铃虫 *Helicoverpa zea* 的蛹滞育可以被 20E, DH 和 DH 类似物解除,对滞育蛹分别注射 3 种激素均导致胰岛素/FOXO 通路相关的 miR-277-3p 显著下调 (Reynolds *et al.*, 2019)。在埃及伊蚊 *Aedes aegypti* 中,干扰 miR-277-3p 能够激活胰岛素信号增强 FOXO 的核输出,从而导致脂肪体脂质减少 (Ling *et al.*, 2017)。miR-277-3p 丰度的降低可能是一些昆虫解除滞育的关键 (图 3: C)。

表观遗传参与昆虫蛹滞育调控的研究较多,其中尤以麻蝇蛹滞育调控研究最为丰富。这些报道以相关性研究为主,机制研究较为欠缺,亟待深入研究。PRC2 介导的棉铃虫 PTTH 启动子区 H3K27me3 能够影响其蛹滞育,这一研究表明滞育关键基因座及其调控子区域的表观遗传在昆虫的滞育调控中具有重要作用。在美洲棉铃虫蛹滞育调控中,20E 和 DH 介导的胰岛素/FOXO 相关 miR-277-3p 下调表明,耦联内分泌信号是表观遗传调控昆虫滞育的可能环节。综上,需要进一步探讨蛹滞育调

控中表观遗传与内分泌信号之间的相互作用,以及表观遗传对滞育诱导环境信号的应答机制。

4 成虫滞育或生殖滞育调控

成虫滞育的昆虫主要表现为雌性卵巢和雄性附腺发育受到抑制,脂质大量积累,有些昆虫还具有钻土和寻找庇护所的行为特征 (Danks, 1987)。目前认为,成虫滞育主要因 JH 缺乏引起 (Denlinger *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2016)。昆虫脑感受滞育诱导环境信号后抑制咽侧体 (corpus allatum, CA) 合成 JH,低水平 JH 作用卵巢后导致成虫滞育;反之,滞育解除或发育信号可以促进 CA 合成 JH,高水平 JH 解除成虫滞育并促进生殖 (Cad *et al.*, 1987; Denlinger *et al.*, 2005)。目前表观遗传参与昆虫成虫滞育调控的研究较少,在尖音库蚊 *Culex pipiens* 中的研究表明组蛋白去乙酰化、TrxG 家族基因和 miRNA 可调控成虫滞育 (图 4)。

滞育诱导条件可能影响尖音库蚊的组蛋白乙酰化水平和染色质结构。低温短光照条件下尖音库蚊 Sin3 和 NuRD 复合体基因表达显著上调 (Hickner *et al.*, 2015),NuRD 复合体具有核小体重构和去乙酰

化能力 (Clapier and Cairns, 2009),而 Sin3 本身即包括 HDAC1 和 HDAC2 两种去乙酰化酶活性 (Reynolds *et al.*, 2017);表明滞育诱导条件可能降低尖音库蚊染色质乙酰化水平,进而促进染色质向异染色质变构,暗示组蛋白乙酰化和染色质重构与滞育诱导或滞育准备期相关基因的沉默有关。此外,20E 合成基因 *Spook* 和 *Disembodied*,以及 TrxG 家族基因亦显著上调 (Hickner *et al.*, 2015),TrxG 与 PcG 拮抗能够调控果蝇 *Drosophila* 的寿命和应激反应 (Siebold *et al.*, 2010);不过滞育诱导条件下尖音库蚊 PcG 家族基因的表达情况尚不明确,TrxG 家族基因的上调可能参与尖音库蚊滞育诱导期对环境信号的响应,也可能参与滞育准备期相关分子事件 (如脂质积累)的激活。

滞育的尖音库蚊成虫羽化后的第 22 天开始出现脂肪体和卵巢的生理表型,参与尖音库蚊脂质代谢和卵巢发育的相关 miRNA 在尖音库蚊成虫羽化第 1 天就表现出明显的表达差异,可能参与其滞育准备;进入滞育后,雌虫 miRNA 表达显著下调、丰度较低,可能参与其滞育维持 (Meuti *et al.*, 2018)。表观遗传可能通过作用于内分泌信号、脂质代谢和卵黄原沉积调控成虫滞育。

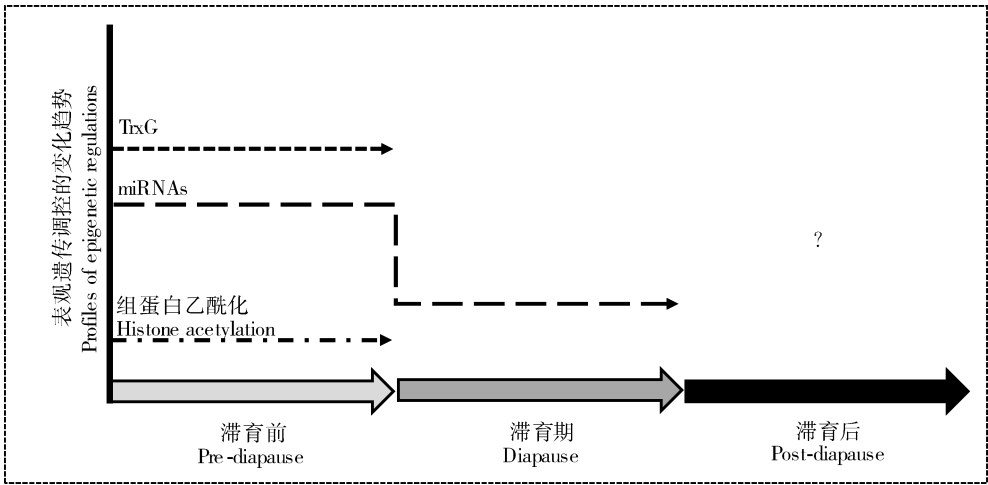


图 4 表观遗传参与昆虫成虫滞育的时期

Fig. 4 Period of epigenetics involved in insect adult diapause

涉及的表观遗传调控机制 Epigenetic regulation mechanisms involved: 三胸蛋白家族 Trithorax group (TrxG) (Hickner *et al.*, 2015); 组蛋白乙酰化 Histone acetylation (Hickner *et al.*, 2015); miRNAs (Meuti *et al.*, 2018).

5 小结与展望

目前的报道认为,组蛋白修饰、DNA 甲基化、RNA 甲基化和小非编码 RNA 均可能参与昆虫滞育

调控,但其他类型表观遗传在昆虫滞育中的作用尚不明确,需要进一步拓展和补充。表观遗传在昆虫的滞育诱导、滞育准备、滞育维持和滞育解除调控中可能都有作用,现有的研究主要集中在卵滞育、幼虫滞育和蛹滞育昆虫中,在成虫滞育昆虫中的研究较

少,亟待进一步研究。表观遗传调控的最终结果是靶标基因的程序性表达 (Lu *et al.*, 2013; Ge *et al.*, 2017, 2018), 现有的研究已经聚焦到表观遗传能够调控滞育相关基因的转录活性 (Lu *et al.*, 2013; Batz *et al.*, 2017; Fan *et al.*, 2017), 然而这些研究尚不足以揭示昆虫滞育表观遗传调控的分子机制。相比之下, 更多的研究仅仅关注到滞育选择压力下和滞育期间昆虫表观遗传调控水平的差异, 对于发展昆虫滞育的表观遗传调控理论作用有限, 需要进一步明确昆虫滞育表观遗传调控的具体机制。

5.1 昆虫滞育表观遗传调控潜在的分子机制

滞育可以发生在昆虫发育的各个时期, 无论是滞育还是发育调控都需要内分泌信号的准确调节。而表观遗传是一个系统性调控过程, 在昆虫的各个发育时期都具有生物学功能。因此, 表观遗传耦联内分泌调控是其调节滞育的可能方式。目前的研究已经关注到, 组蛋白去乙酰化诱导 20E 合成基因表达 (Hickner *et al.*, 2015), 并且参与 JH 功能 (George *et al.*, 2019; George and Palli, 2020)。在赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* 中, 组蛋白去乙酰化酶 HDAC1 和 HDAC3 通过影响 JH 应答基因 *Kr-h1* (*Krüppel* homolog 1) 的表达, 调节变态发育 (George *et al.*, 2019; George and Palli, 2020)。在家蚕中, 施加外源 20E 能够激活 Bm12 细胞系环磷酸腺苷 (cyclic adenosine monophosphate, cAMP) 响应元件结合蛋白 (cAMP responsive element binding protein, CREB) 的表达, 并诱导 CBP (CREB binding protein) 介导的组蛋白 H3K27ac (Lyu *et al.*, 2020)。上述研究均指向表观遗传可能耦联昆虫内分泌信号。然而表观遗传如何响应或诱导内分泌信号调控昆虫滞育尚需进一步深入研究。

表观遗传调控还需要许多信号通路参与, 雷帕霉素靶蛋白 (mechanistic target of rapamycin, mTOR) 通路可能是滞育调控中耦联环境信号与表观遗传的关键环节。mTOR 通路能够响应能量、生长因子和压力信号, 调控细胞生长、增殖、发育和代谢 (Markaki and Tavernarakis, 2013)。在黑腹果蝇 *D. melanogaster* 中, TOR 活性降低能够显著增强 FOXO 活性从而破除胰岛素抵抗以延长果蝇寿命 (Luong *et al.*, 2006)。而胰岛素/TOR 通路能够响应温度信号调控蟋蟀 *Modicogryllus siamensis* 的冬季若虫滞育 (Miki *et al.*, 2020)。TOR 的活性下降可能与昆虫滞育启动相关 (Wang *et al.*, 2020)。在棉铃虫滞育蛹脑中, TOR 和 TOR 相关蛋白 Raptor 显著下调, 另

一 TOR 相关蛋白 P-S6K 则显著上调; P-S6K 能够响应上游活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 和 AKT 并促进下游 CREB 与 HIF-1 α 启动子结合, 进而激活 HIF-1 α 的表达; 高水平 HIF-1 α 能够显著降低滞育昆虫线粒体活性, 从而静默昆虫能量代谢以诱导滞育进入, CREB 激活 HIF-1 α 表达可能伴随 CBP 介导的组蛋白乙酰化修饰 (Wang *et al.*, 2020)。

果蝇 TORC1 的激活需要瞬时受体电位类 M 通道蛋白 (transient receptor potential channel M-like, TRPML) 的介导 (Wong *et al.*, 2012), 瞬时受体电位通道蛋白 (transient receptor potential channels, TRPCs) 可能在 mTOR 通路中发挥作用。生物钟系统是昆虫响应环境光周期的核心 (Saunders, 2020), 果蝇 TRPCs 可以耦联环境温度信号与生物钟系统 (Wolfgang *et al.*, 2013), 且 TRP 复合体本身即可作为果蝇生理电信号的储存装置 (Xu *et al.*, 1997)。瞬时受体电位 C1 通道蛋白 (transient receptor potential channel C1, TRPC1) 介导的 Ca²⁺ 信号流能够激活核内 PCAF (P300/CBP-associated factor) 介导的表观遗传修饰 (Yap *et al.*, 2019), 表明 TRPC1 可能耦联环境信号和表观遗传调控, 在昆虫滞育调控中可能扮演重要角色。瞬时受体电位 A1 通道蛋白 (transient receptor potential channel A1, TRPA1) 通过响应环境温度变化, 从而介导家蚕滞育诱导 (Sato *et al.*, 2014)。在亲代卵期干扰 *BmTrpa1* 能够显著提高 25 $^{\circ}\text{C}$ (滞育诱导温度) 下子代卵的非滞育率, TRPA1 的缺失能够影响家蚕的滞育诱导进而影响亲代蛹期 DH 的释放 (Sato *et al.*, 2014)。尽管 TRPCs 作为生物感知环境信号的分子元件已是不争的事实 (Venkatachalam and Montell, 2007), 但 TRPCs 是否参与表观遗传调控昆虫滞育尚需证据加以支持。

5.2 未来的研究方向

昆虫滞育的表观遗传调控主要包括两个问题: 一是滞育诱导的环境信号如何影响表观遗传; 二是表观遗传如何作用昆虫滞育。未来应当重点开展: (1) 表观遗传响应滞育诱导环境信号的分子机制研究; (2) 表观遗传耦联内分泌调控的分子机制研究; (3) 介导表观遗传调控的细胞信号转导研究; (4) 表观遗传的协同调控在昆虫滞育中的功能研究。值得注意的是, 表观遗传响应滞育诱导环境信号的时期远远早于滞育表型的形成时期, 表观遗传信号经历多次积累、传递和转换, 这种传递和转换可能伴随昆虫的变态发育和跨代调控。表观遗传可能作为滞育

调控或发育决定的分子标志,解析表观遗传密码在滞育调控中的具体作用对于宏观理解昆虫滞育机制具有重大意义。

可以预见,表观遗传调控参与生物发育可塑性研究会全面进入机制研究阶段。以表观遗传为切入点,滞育调控为中心,明确表观遗传在滞育调控机制中的位置、响应滞育诱导环境信号具体过程、与滞育相关基因互作机制以及诱导或响应滞育内分泌调控过程将会是表观遗传调控昆虫滞育机制研究的核心内容。明确表观遗传参与昆虫滞育调控的具体机制是昆虫滞育研究的必经之路,对于了解生物休眠和生物发育具有重要意义,可以进一步发展和提高昆虫资源保护利用、害虫防控与综合治理等领域的技术与水平。

致谢 感谢华中农业大学植物科学技术学院朱智慧副教授在本文撰写中提出的宝贵建议和意见。

参考文献 (References)

- Batz ZA, Goff AC, Armbruster PA, 2017. MicroRNAs are differentially abundant during *Aedes albopictus* diapause maintenance but not diapause induction. *Insect Mol. Biol.*, 26(6): 721–733.
- Bogus M, Scheller K, 1996. Allatotropin released by the brain controls larval molting in *Galleria mellonella* by affecting juvenile hormone synthesis. *Int. J. Dev. Biol.*, 40(1): 205–210.
- Bonasio R, Tu S, Reinberg D, 2010. Molecular signals of epigenetic states. *Science*, 330(6004): 612–616.
- Boon C, Li R, Qi R, Dick T, 2001. Proteins of *Mycobacterium bovis* BCG induced in the Wayne dormancy model. *J. Bacteriol.*, 183(8): 2672–2676.
- Cad D, Ma K, Ab K, 1987. Juvenile hormone and the control of adult diapause in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *Insect Biochem.*, 17(7): 985–988.
- Cai L, 2012. *Frontiers of Epigenetics*. Tsinghua University Press, Beijing. [蔡禄, 2012. 表观遗传学前沿. 北京: 清华大学出版社]
- Campos EI, Reinberg D, 2009. Histones: Annotating chromatin. *Annu. Rev. Genet.*, 43: 559–599.
- Cardoso-Júnior CAM, Guidugli-Lazzarini KR, Hartfelder K, 2018. DNA methylation affects the lifespan of honey bee (*Apis mellifera* L.) workers – Evidence for a regulatory module that involves vitellogenin expression but is independent of juvenile hormone function. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 92: 21–29.
- Clapier CR, Cairns BR, 2009. The biology of chromatin remodeling complexes. *Annu. Rev. Biochem.*, 78: 273–304.
- Czermin B, Schotta G, Hülsmann BB, Brehm A, Becker PB, Reuter G, Imhof A, 2001. Physical and functional association of SU(VAR)3–9 and HDAC1 in *Drosophila*. *EMBO Rep.*, 2: 915–919.
- Danks HV, 1987. *Insect Dormancy: An Ecological Perspective*. Biological Survey of Canada (Terrestrial Arthropods), Ottawa.
- Delaney CE, Chen AT, Graniel JV, Dumas KJ, Hu PJ, 2017. A histone H4 lysine 20 methyltransferase couples environmental cues to sensory neuron control of developmental plasticity. *Development*, 144(7): 1273–1282.
- Demoinet E, Li SL, Roy R, 2017. AMPK blocks starvation-inducible transgenerational defects in *Caenorhabditis elegans*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 114(13): 2689–2698.
- Denlinger DL, 2002. Regulation of diapause. *Annu. Rev. Entomol.*, 47: 93–122.
- Denlinger DL, Yocum GD, Rinehart JP, 2005. Hormonal control of diapause. In: Gilbert LI, Iatrou K, Gill S eds. *Comprehensive Insect Molecular Science*. Elsevier, Amsterdam. 615–650.
- Di Stefano L, Ji JY, Moon NS, Herr A, Dyson N, 2007. Mutation of *Drosophila Lsd1* disrupts H3-K4 methylation, resulting in tissue-specific defects during development. *Curr. Biol.*, 17(9): 808–812.
- Drazica A, Myklebusta LM, Reea R, Arnesen T, 2016. The world of protein acetylation. *Biochim. Biophys. Acta*, 1864(10): 1372–1401.
- Egi Y, Tsubouchi H, Sakamoto K, 2016. Does DNA methylation play a role in photoperiodic diapause of moths? *J. Entomol. Zool. Stud.*, 4: 458–460.
- Fan WT, Zhong YS, Qin MY, Lin BM, Chen FY, Yan HC, Li WC, Lin JR, 2017. Differentially expressed microRNAs in diapausing versus HCl-treated *Bombyx* embryos. *PLoS ONE*, 12(7): e0180085.
- Filippakopoulos P, Picaud S, Mangos M, Keates T, Lambert JP, Barsyte-Lovejoy D, Felletar I, Volkmer R, Müller S, Pawson T, Gingras AC, Arrowsmith CH, Knapp S, 2012. Histone recognition and large-scale structural analysis of the human bromodomain family. *Cell*, 149(1): 214–231.
- Ge CT, Ye J, Weber C, Sun W, Zhang HY, Zhou YJ, Cai C, Qian GY, Capel B, 2018. The histone demethylase KDM6B regulates temperature-dependent sex determination in a turtle species. *Science*, 360(6389): 645–648.
- Ge CT, Ye J, Zhang HY, Zhang Y, Sun W, Sang YP, Capel B, Qian GY, 2017. *Dmrt1* induces the male pathway in a turtle with temperature-dependent sex determination. *Development*, 144(12): 2222–2233.
- George S, Gaddelapati SC, Palli SR, 2019. Histone deacetylase 1 suppresses *Krüppel homolog 1* gene expression and influences juvenile hormone action in *Tribolium castaneum*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 116(36): 17759–17764.
- George S, Palli SR, 2020. Histone deacetylase 11 knockdown blocks larval development and metamorphosis in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*. *Front. Genet.*, 11: 683.
- Glastad KM, Hunt BG, Goodisman MAD, 2019. Epigenetics in insects: Genome regulation and the generation of phenotypic diversity. *Annu. Rev. Entomol.*, 64: 185–203.

- Guppy M, Withers P, 1999. Metabolic depression in animals: Physiological perspectives and biochemical generalizations. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.*, 74(1): 1–40.
- Hahn DA, Denlinger DL, 2011. Energetics of insect diapause. *Annu. Rev. Entomol.*, 56: 103–121.
- Hartfelder K, Emlen DJ, 2005. Endocrine control of insect polyphenism. In: Gilbert LI, Iatrou K, Gill S eds. *Comprehensive Insect Molecular Science*. Elsevier, Amsterdam. 651–703.
- Hickner PV, Mori A, Zeng EL, Tan JC, Severson DW, 2015. Whole transcriptome responses among females of the filariasis and arbovirus vector mosquito *Culex pipiens* implicate TGF- β signaling and chromatin modification as key drivers of diapause induction. *Funct. Integr. Genomics*, 15: 439–447.
- Hüla P, Košťál V, 2017. Potential role for histone H3K4 methylation in diapause induction in the larva of *Chymomyza costata*. Conference: ISEPEP 7 At: Tartu, Estonia Affiliation: Estonian University of Life Sciences. DOI: 10.13140/RG.2.2.25139.37925.
- Hussein A, Wang YL, Mathieu J, Margaretha L, Song CZ, Jones D, Cavanaugh C, Miklas J, Mahen E, Showalter M, Ruzzo W, Fiehn O, Ware C, Blau C, Ruohola-Baker H, 2020. Metabolic control over mTOR-dependent diapause-like state. *Dev. Cell*, 52(2): 236–250.
- Jiang H, Shukla A, Wang X, Chen WY, Bernstein BE, Roeder RG, 2011. Role for *Dpy-30* in ES cell-fate specification by regulation of H3K4 methylation within bivalent domains. *Cell*, 144(5): 327–339.
- Jiang T, Li JS, Qian P, Xue P, Xu J, Chen Y, Zhu J, Tang SM, Zhao QL, Qian HY, Shen XJ, 2019. The role of N6-methyladenosine modification on diapause in silkworm (*Bombyx mori*) strains that exhibit different voltinism. *Mol. Reprod. Dev.*, 86(12): 1981–1992.
- Kallio P, Piironen P, 1959. Effect of gibberellin on the termination of dormancy in some seeds. *Nature*, 183(4678): 1830–1831.
- Kennison JA, 1995. The Polycomb and Trithorax group proteins of *Drosophila*: Trans-regulators of homeotic gene function. *Annu. Rev. Genet.*, 29: 289–303.
- Kirfel P, Skaljic M, Grotmann J, Kessel T, Seip M, Michaelis K, Vilcinskas A, 2020. Inhibition of histone acetylation and deacetylation enzymes affects longevity, development, and fecundity in the pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*). *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 103(3): e21614.
- Košťál V, 2006. Eco-physiological phases of insect diapause. *J. Insect Physiol.*, 52(2): 113–127.
- Lennon J, Jones S, 2011. Microbial seed banks: the ecological and evolutionary implications of dormancy. *Nat. Rev. Microbiol.*, 9(2): 119–130.
- Li B, Hu P, Zhang SZ, Toufееq S, Wang J, Zhao K, Xu X, Xu J, Huang SJ, 2019. DNA methyltransferase *BmDnmt1* and *BmDnmt2* in silkworm (*Bombyx mori*) and the regulation of silkworm embryonic development. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 100(3): e21529.
- Ling L, Kokoza VA, Zhang C, Aksoy E, Raikhel AS, 2017. MicroRNA-277 targets insulin-like peptides 7 and 8 to control lipid metabolism and reproduction in *Aedes aegypti* mosquitoes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 114(38): 8017–8024.
- Liu W, Li Y, Zhu L, Zhu F, Lei CL, Wang XP, 2016. Juvenile hormone facilitates the antagonism between adult reproduction and diapause through the methoprene-tolerant gene in the female *Colaphellus bowringi*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 74: 50–60.
- Liu Y, Geyer R, van Zanten M, Carles A, Li Y, Horold AJ, van Nocker S, Soppe WJJ, 2011. Identification of the *Arabidopsis REDUCED DORMANCY 2* gene uncovers a role for the polymerase associated factor 1 complex in seed dormancy. *PLoS ONE*, 6(7): e22241.
- Lu YX, Denlinger DL, Xu WH, 2013. Polycomb complex 2 (PRC2) protein ESC regulates insect developmental timing by mediating H3K27me3 and activating prothoracicotropic hormone gene expression. *J. Biol. Chem.*, 288(32): 23554–23564.
- Luong N, Davies CR, Wessells RJ, Graham SM, King MT, Veech R, Bodmer R, Oldham SM, 2006. Activated FOXO-mediated insulin resistance is blocked by reduction of TOR activity. *Cell Metabol.*, 4(2): 133–142.
- Lyu H, Xu G, Chen P, Song Q, Feng Q, Yi Y, Zheng S, 2020. 20-Hydroxyecdysone receptor-activated *Bombyx mori* CCAAT/enhancer-binding protein gamma regulates the expression of *BmCBP* and subsequent histone H3 lysine 27 acetylation in *Bo. mori*. *Insect Mol. Biol.*, 29(2): 256–270.
- Markaki M, Tavernarakis N, 2013. Metabolic control by target of rapamycin and autophagy during ageing – A mini-review. *Gerontology*, 59(4): 340–348.
- Meister P, Schott S, Bedet C, Xiao Y, Rohner S, Bodennec S, Hudry B, Molin L, Solari F, Gasser SM, Palladino F, 2011. *Caenorhabditis elegans* heterochromatin protein 1 (HPL-2) links developmental plasticity, longevity and lipid metabolism. *Genome Biol.*, 12(12): R123.
- Meuti ME, Bautista-Jimenez R, Reynolds JA, 2018. Evidence that microRNAs are part of the molecular toolkit regulating adult reproductive diapause in the mosquito, *Culex pipiens*. *PLoS ONE*, 13(11): e0203015.
- Miki T, Shinohara T, Chafino S, Noji S, Tomioka K, 2020. Photoperiod and temperature separately regulate nymphal development through JH and insulin/TOR signaling pathways in an insect. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 117(10): 5525–5531.
- Ooi SK, Qiu C, Bernstein E, Li K, Jia D, Yang Z, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Lin SP, Allis CD, Cheng XD, Bestor TH, 2007. DNMT3L connects unmethylated lysine 4 of histone H3 to *de novo* methylation of DNA. *Nature*, 448(7154): 714–717.
- Pegoraro M, Bafna A, Davies NJ, Shuker DM, Tauber E, 2016. DNA methylation changes induced by long and short photoperiods in *Nasonia*. *Genome Res.*, 26(2): 203–210.
- Peng W, Yu SN, Handler AM, Tu ZJ, Saccone G, Xi ZY, Zhang HY, 2020. miRNA-1-3p is an early embryonic male sex-determining factor in the oriental fruit fly *Bactrocera dorsalis*. *Nat. Commun.*, 11(1): 932.
- Poupardin R, Schöttner K, Korbelová J, Provazník J, Doležel D,

- Pavlinic D, Beneš V, Košťál V, 2015. Early transcriptional events linked to induction of diapause revealed by RNAseq in larvae of drosophilid fly, *Chymomyza costata*. *BMC Genomics*, 16: 720.
- Qi D, Haining J, Lilia T, Mannervick M, 2006. *Drosophila* Reptin and other TIP60 complex components promote generation of silent chromatin. *Genetics*, 174(1): 241–251.
- Rando OJ, 2012. Daddy issues: paternal effects on phenotype. *Cell*, 151(9): 702–708.
- Reynolds JA, 2017. Epigenetic influences on diapause. In: Verlinden H ed. *Insect Epigenetics*, Vol. 53. *Advances in Insect Physiology*. Elsevier, London. 115–144.
- Reynolds JA, 2019. Noncoding RNA regulation of dormant states in evolutionarily diverse animals. *Biol. Bull.*, 23(2): 192–209.
- Reynolds JA, Bautista-Jimenez R, Denlinger DL, 2016. Changes in histone acetylation as potential mediators of pupal diapause in the flesh fly, *Sarcophaga bullata*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 76: 29–37.
- Reynolds JA, Clark J, Diakoff SJ, Denlinger DL, 2013. Transcriptional evidence for small RNA regulation of pupal diapause in the flesh fly, *Sarcophaga bullata*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 43: 982–989.
- Reynolds JA, Hand SC, 2009. Embryonic diapause highlighted by differential expression of mRNAs for ecdysteroidogenesis, transcription and lipid sparing in the cricket *Allonemobius socius*. *J. Exp. Biol.*, 212(13): 2075–2084.
- Reynolds JA, Nachman RJ, Denlinger DL, 2019. Distinct microRNA and mRNA responses elicited by ecdysone, diapause hormone and a diapause hormone analog at diapause termination in pupae of the corn earworm, *Helicoverpa zea*. *Gen. Comp. Endocr.*, 278: 68–78.
- Reynolds JA, Peytona JT, Denlinger DL, 2017. Changes in microRNA abundance may regulate diapause in the flesh fly, *Sarcophaga bullata*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 84: 1–14.
- Ringrose L, Paro R, 2004. Epigenetic regulation of cellular memory by the Polycomb and Trithorax group proteins. *Annu. Rev. Genet.*, 38: 413–443.
- Ringrose L, Paro R, 2007. Polycomb/Trithorax response elements and epigenetic memory of cell identity. *Development*, 134(2): 223–232.
- Rossari F, Zucchini C, Buda G, Orciuolo E, 2020. Tumor dormancy as an alternative step in the development of chemoresistance and metastasis-clinical implications. *Cell Oncol.*, 43(2): 155–176.
- Rubio RO, Suzuki A, Mitsumasu K, Homma T, Niimi T, Yamashita O, Yaginuma T, 2011. Cloning of cDNAs encoding sorbitol dehydrogenase-2a and b, enzymatic characterization, and up-regulated expression of the genes in *Bombyx mori* diapause eggs exposed to 5°C. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 41(6): 378–387.
- Santos PKF, Araujo ND, Françoise E, Zuntini AR, Arias MC, 2018. Diapause in a tropical oil-collecting bee: Molecular basis unveiled by RNA-Seq. *BMC Genomics*, 19: 305.
- Sasibhushan S, Rao CGP, Ponnuvel KM, 2013. Genome wide microarray based expression profiles during early embryogenesis in diapause induced and non-diapause eggs of polyvoltine silkworm *Bombyx mori*. *Genomics* 102(4): 379–387.
- Sato A, Sokabe T, Kashio M, Yasukochi Y, Tominaga M, Shiomi K, 2014. Embryonic thermosensitive TRPA1 determines transgenerational diapause phenotype of the silkworm, *Bombyx mori*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 111(13): 1249–1255.
- Saunders DS, 1965. Larval diapause of maternal origin; Induction of diapause in *Nasonia vitripennis* (Walk.) (Hymenoptera: Pteromalidae). *J. Exp. Biol.*, 42(3): 495–508.
- Saunders DS, 2020. Dormancy, diapause, and the role of the circadian system in insect photoperiodism. *Annu. Rev. Entomol.*, 65: 373–389.
- Schwartz YB, Pirrotta V, 2007. Polycomb silencing mechanisms and the management of genomic programmes. *Nat. Rev. Genet.*, 8: 9–22.
- Shu K, Liu XD, Xie Q, He ZH, 2016. Two faces of one seed: Hormonal regulation of dormancy and germination. *Mol. Plant*, 9(1): 34–45.
- Siebold AP, Banerjee R, Tie F, Kiss DL, Moskowitz J, Harte PJ, 2010. Polycomb Repressive Complex 2 and Trithorax modulate *Drosophila* longevity and stress resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107(1): 169–174.
- Sondheimer E, Tzou DS, Galson EC, 1968. Abscissic acid levels and seed dormancy. *Plant Physiol.*, 43(9): 1443–1447.
- Suh YS, Bhat S, Hong SH, Shin MJ, Bahk S, Cho KS, Kim SW, Lee KS, Kim YJ, Jones WD, Yu K, 2015. Genome-wide microRNA screening reveals that the evolutionary conserved miR-9a regulates body growth by targeting sNPF1/NPYR. *Nat. Commun.*, 6: 7693.
- Tomari Y, Du TT, Zamore PD, 2007. Sorting of *Drosophila* small silencing RNAs. *Cell*, 130(2): 299–308.
- Venkatachalam K, Montell C, 2007. TRP channels. *Annu. Rev. Biochem.*, 76(1): 387–417.
- Wang XX, Geng SL, Zhang XS, Xu WH, 2020. P-S6K is associated with insect diapause via the ROS/AKT/S6K/CREB/HIF-1 pathway in the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 120: 10326.
- Wolfgang W, Simoni A, Gentile C, Stanewsky R, 2013. The Pyrexia transient receptor potential channel mediates circadian clock synchronization to low temperature cycles in *Drosophila melanogaster*. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.*, 280(1768): 20130959.
- Wong CO, Li R, Montell C, Venkatachalam K, 2012. *Drosophila* TRPML is required for TORC1 activation. *Curr. Biol.*, 22(17): 1616–1621.
- Xu XZ, Li HS, Guggino WB, Montell C, 1997. Coassembly of TRP and TRPL produces a distinct store-operated conductance. *Cell*, 89(7): 1155–1164.
- Yang Y, Chen YS, Sun BF, Yang YG, 2018. RNA methylation: Regulations and mechanisms. *Hereditas (Beijing)*, 40(11): 964–976. [杨莹, 陈宇晟, 孙宝发, 杨运桂, 2018. RNA 甲基化修饰调控和规律. *遗传*, 40(11): 964–976]
- Yao Q, Chen Y, Zhou X, 2019. The roles of microRNAs in epigenetic regulation. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 51: 11–17.
- Yap JLY, Tai YK, Fröhlich J, Fong CHH, Yin JN, Foo ZL, Ramanan

- S, Beyer C, Toh SJ, Casarosa M, Bharathy N, Kala MP, Egli M, Taneja R, Lee CN, Franco-Obregón A, 2019. Ambient and supplemental magnetic fields promote myogenesis via a TRPC1-mitochondrial axis: Evidence of a magnetic mitohormetic mechanism. *FASEB J.*, 33(11): 12853 – 12872.
- Yocum GD, Rinehart JP, Horvath DP, Kemp WP, Bosch J, Alroobi R, Salem S, 2015. Key molecular processes of the diapause to post-diapause quiescence transition in the alfalfa leafcutting bee *Megachile rotundata* identified by comparative transcriptome analysis. *Physiol. Entomol.*, 40(2): 103 – 112.
- Zhang JL, Yuan XB, Chen SJ, Chen HH, Xu N, Xue WH, Fu SJ, Zhang CX, Xu HJ, 2018. The histone deacetylase NIHDAC1 regulates both female and male fertility in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Open Biol.*, 8(12): 180158.

(责任编辑: 赵利辉)