

蚊虫抗拟除虫菊酯数量性状位点的研究进展*

刘柏琦, 陈 斌, 乔 梁

(重庆师范大学 昆虫与分子生物学研究所 重庆市动物生物学重点实验室, 重庆 401331)

摘要:蚊虫是重要的医学昆虫,对人类危害极大。近些年来,由于拟除虫菊酯杀虫剂的广泛使用,导致蚊虫体内产生了抗药性。为了解析抗药性的分子基础和遗传特性,当前采用了一种新的方法即数量性状位点(Quantitative trait loci, QTL)定位。综述了近些年来蚊虫抗拟除虫菊酯 QTL 的研究的最新进展,包括蚊虫 QTL 定位研究的理论基础、QTL 定位鉴定抗性位点、抗性基因差异表达分析及功能调控。蚊虫抗拟除虫菊酯 QTL 的研究发展迅速,相关研究成果对蚊虫的防治和病媒疾病的控制具有重要意义;在现有方法的基础上,可以利用高通量测序和关联分析来深入解析蚊虫 QTL,为进一步探究蚊虫抗药性提供新的契机。

关键词:蚊虫;抗拟除虫菊酯;数量性状位点;抗性基因;比较分析

中图分类号:Q966

文献标志码:A

文章编号:1672-6693(2016)06-0026-06

蚊虫是重要的医学昆虫类群,对人类的主要危害表现在骚扰、钉刺、吸血及传播疾病,尤以传播疾病对人类的健康威胁最大。因此,采取措施控制蚊虫数量就显得尤为重要。目前,使用化学杀虫剂是最主要的控制蚊虫数量手段。拟除虫菊酯类药物具有经济、杀虫谱广、毒性低、效率高等特点,是当前使用最广泛的一类杀虫剂^[1-2]。然而,近30年来,随着拟除虫菊酯类杀虫剂的不合理使用,许多蚊虫已经对拟除虫菊酯类杀虫剂产生了抗药性,且抗性逐渐增强^[3-4]。据美国疾病预防控制中心(CDC)提供的数据显示,截止到2015年,在世界范围内已有125种蚊虫对此类杀虫剂产生了抗性^[3-4]。面对这一严峻的形势,如果再不采取新的有效措施,那么以前蚊虫防控工作中所取得的一些成果将可能会毁于一旦,而已得到控制的蚊媒传染疾病也将会随之卷土重来。解析蚊虫对拟除虫菊酯类的抗药性产生的分子基础并揭示其中抗性机制,不仅是对阻止或缓解拟除虫菊酯抗性策略的关键环节,同时也能为新型杀虫剂的研发和新蚊虫防控措施的探索提供理论依据。

蚊虫对拟除虫菊酯类杀虫剂的抗性,主要表现在行为抗性(蚊虫躲避杀虫剂)、表皮抗性(表皮增厚,药物穿透性降低)、代谢抗性(解毒酶活性增强)、靶标抗性(靶标位点的不敏感)等4个方面^[5]。但是上述4类抗性通常涉及到多种基因及代谢通路的参与,如蚊虫基因组中许多基因能够赋予有关抗性^[6-7]。据研究表明,在抗感蚊虫中,抗性不仅仅由某一通路中基因的表达水平(表达量上调等)所决定;其次,在抗性蚊虫中,难以通过基因的上调表达来判断哪一通路主要负责抗性^[8]。因此,在表型分析上看似单一的杀虫剂抗性性状,其中的分子基础是复杂多变的。

目前的研究显示,蚊虫的溴氰菊酯抗性是一种稳定遗传的优势性状^[9-10]。例如:Wondji 等人^[1]在对不吉按蚊(*Anopheles funestus*)的研究中发现,蚊虫抗性性状能稳定的从亲代传递到子代,使抗性群体数量较之前明显增多。Ranson 等人^[3]对非洲大部分地区冈比亚按蚊(*Anopheles gambiae*)进行抗药性检测时发现,几乎所有蚊虫具有了抗药性,且随着各种杀虫剂的不断使用抗性逐年增强^[11]。因此,对于抗性分子基础的研究,首先要着眼于抗性表型本身。由于抗性是复杂的遗传性状,在抗感蚊虫中总有一些基因参与其中的表达,同时抗性通路的复杂性导致了产生抗性的分子基础和抗性机制也更加复杂^[12-13]。数量性状是一种复杂性状,由许多微效基因控制,具有遗传性^[14]。近些年来,随着遗传图谱和数量性状位点(Quantitative trait loci, QTL)定位方法的不断完善,蚊虫 QTL 定位研究也取得了许多研究成果。本文主要从 QTL 定位鉴定抗性位点、抗性基因差异表达分析

* 收稿日期:2016-04-02 修回日期:2016-05-11 网络出版时间:2016-11-02 13:28

资助项目:“两江学者”计划专项经费;国家自然科学基金(No. 31302038);重庆师范大学基金青年项目(No. 13XLQ05);重庆市自然科学基金(No. CSTC2013JCYJA80022)

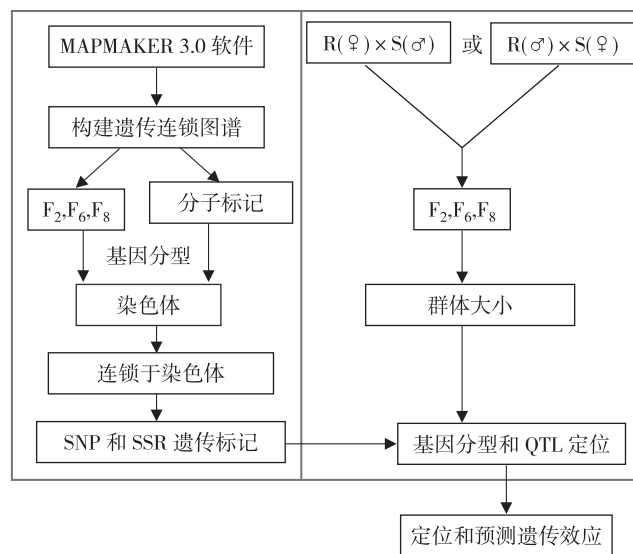
作者简介:刘柏琦,男,研究方向为昆虫分子生物学,E-mail:877399740@qq.com;通信作者:乔梁,副教授,E-mail:qiaoliangswu@163.com

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1165.N.20161102.1328.020.html>

及功能调控等几方面进行了综述,并探讨了蚊虫抗拟除虫菊酯 QTL 将来的研究趋势和应用前景。

1 蚊虫 QTL 定位策略

近些年来,随着分子遗传学、生物统计学等学科不断发展,加上高通量基因表达谱、各种制图软件和统计软件的开发,使得蚊虫 QTL 定位方法层出不穷;定位已发展到精细定位和克隆,但其中基本遗传原理与其他物种相同,即当标记与性状的某个 QTL 连锁时,不同标记基因型个体的表型值将存在显著差异,QTL 分析就是以这些连锁发生为基础而进行的。目前,蚊虫中 QTL 定位方法主要有基因组扫描和候选基因法,基因组扫描法就是利用遗传差异较大的品系(一般为抗性和感性品系)进行杂交,跟踪抗性性状和染色体上的标记在多世代家系中的分离情况,是一种在基因组上鉴定抗性相关位点的研究方法;而候选基因法是根据其他蚊虫已知基因的表型性状或待研究基因组区间可能的基因,研究候选基因位点上存在多态性及其与目标性状之间的相关性,如标记分析法、区间分析法和贝叶斯分析法等。当然,还有其他一些方法,如复合区间作图法(CIM)。此方法因不受两区间独立与否的影响,能减少剩余方差,提高检测 QTL 的能力,故被广泛使用^[15]。一般而言,蚊虫 QTL 定位通常采取以下步骤:1) 需要检测和筛选亲本。用 MAPMAKER3.0^[16] 或 MAPMAKER/QTL^[17] 软件构建一个足以覆盖整个基因组的标记基因座遗传连锁图谱^[18],确定标记位点与表型性状之间的连锁关系。其中群体一般是纯系的抗性和感性品系正反杂交得到 F_2 、 F_6 或 F_8 群体,大小根据实际需要确定(一般在 250~490 个个体之间)。2) 需要使用具有多态性的分子标记。理想的分子标记一般具有共显性、均匀分布在整条染色体上、检测手段简单快速、使用成本低等特征。目前在蚊虫中构建遗传连锁图谱使用的分子标记主要有 SNP、SSR,其中 SNP 标记和 SSR 标记是当前使用最为广泛的遗传标记。3) 用相应的统计模型和软件处理,分析实验数据,确定分子标记与 QTL 的连锁关系以及 QTL 在染色体上的位置,估计其中的遗传效应。图 1 中展示了蚊虫 QTL 定位中的一般策略。



注:R-抗性品系;S-感性品系。

图 1 蚊虫杀虫剂抗性 QTL 定位的一般策略

Fig. 1 The QTL general strategy of insecticide resistance in mosquitoes

2 蚊虫 QTL 定位鉴定抗性位点的研究进展

2.1 QTL 定位鉴定抗性位点

自 1994 年 Severson 等人^[19]首次利用 RFLP 连锁图定位了埃及伊蚊(*Aedes aegypti*)丝虫病抗性的 2 个 QTL 以来,目前有关蚊虫 QTL 的研究取得了很大的进展。Ranson 等人^[3]采用全基因组扫描法在冈比亚按蚊中鉴定出 3 个 QTL:rtp1、rtp2 和 rtp3,且这些 QTL 与拟除虫菊酯抗性有关。有研究进一步估计了遗传效应,认为 rtp1 和 rtp2 是主要的 QTL,rtp3 是次要的 QTL^[9]。Wondji 等人^[15]使用 349 个不吉按蚊 F_2 群体和 56 个分子标记,构建了 3 个连锁的遗传连锁图谱,每一个连锁群对应一条染色体,鉴定出与抗性相关的 1 个 QTL,为 rp1。此外,他们采用区间作图法(IM)、复合区间作图法(CIM)和多元区间作图法(MIM)预测了 QTL 位置,结果表明在第 4 家系中,rp1 位点位于 Chr2 的 R 端;第 6 和第 11 家系中,同样发现有一个 QTL 与第 4 家系 rp1 具有相同位置,也是 rp1。因此,在第 4、第 6 和第 11 家系中,均存在一个共同的 rp1 位点。Wondji 等人^[1]进一步利用定位克隆,对不吉按蚊的一段 120 kb 序列进行扫描,结果发现有 2 个额外的 QTL,即 rp2 和 rp3。有趣的是,研究发现在 QTL 位点内存在与抗性相关的一些候选基因,如 *P450s*、*kdr*、*ACHE* 等;而这些基因在染色体上的位置跟冈比亚按蚊中相应基因具有相同的位置^[1]。此外,Saavedra-Rodriguez 等人^[20]利用 IM 和 CIM 作图,对 439 个埃及伊蚊 F_3 群体进行击倒、恢复和存活实验,发现至少有 5 个 QTL 与抗性相关;其中在 Chr1 上有 2 个 QTL,

Chr2 上 1 个,Chr3 上至少有 2 个。但 QTL 在染色体上的具体位置以及遗传效应还有待进一步的研究。

2.2 不同蚊虫溴氰菊酯抗性位点的比较分析

Ranson 等人^[11]在冈比亚按蚊中研究发现了 3 个 QTL,其中 rtp1 和 rtp2 是主要的 QTL,rtp3 是次要的 QTL。rtp1 位于染色体 2L,是钠离子通道基因,由于当时研究所使用的分子标记和群体数量有限,他们只得出一个暂时性的结论:即 rtp1 和钠离子通道等位基因是同一个基因。rtp2 和 rtp3 均存在于 3R 端,其中 rtp2 与细胞色素 P450 侧翼基因相关^[21-22]。同样地,Wondji 等人^[1,4,15]在不吉按蚊中发现了 3 个 QTL 位点,rp1 和 rp2 均位于染色体 2R 端,rp1 位点内具有 14 个蛋白编码基因(10 个为细胞色素 P450 基因)和 1 个假基因,其中 4 个细胞色素 P450 基因在抗感蚊虫中均具有差异表达,特别是 *CYP6P9* 和 *CYP6P4* 基因;rp2 内共有 5 个细胞色素 P450 基因,这些基因在抗性蚊虫中为低表达状态;rp3 位于 3L 端,有 20 个细胞色素 P450 基因,这些基因和冈比亚按蚊的同源基因在染色体上的位置基本一致^[21];rp1 起主效应,rp2 和 rp3 起次效应。另外,Saavedra-Rodriguez 等人^[20]发现,在埃及伊蚊体内与抗性相关 5 个 QTL 中,其中在 Chr3 上的 2 个 QTL 起主效应,在 Chr1、Chr2 上的其他 3 个 QTL 均起次效应。

上述研究表明,在不同物种中,QTL 的数量、在染色体上的位置以及遗传效应均有差异,如冈比亚按蚊中只有 3 个 QTL,而埃及伊蚊中至少有 5 个 QTL 存在;冈比亚按蚊 rtp2 位点起主效应,而不吉按蚊中 rp2 起次效应。此外,抗性位点内具有多种因素(如抗性基因或代谢通路等)参与抗性的表达,这些基因的研究对其他蚊虫未知 QTL 的探究具有一定的指导和借鉴意义。

3 候选基因的克隆和功能分析

3.1 QTL 内候选基因的表达分析

近些年来研究表明,QTL 内存在多种与抗性相关的候选基因,它们在不同蚊种及抗感蚊虫之间均存在差异表达,且主要是细胞色素 P450 基因,有 *CYP4*、*CYP6* 和 *CYP12* 家族基因。已有研究表明,细胞色素 P450 在杀虫剂代谢过程中起重要作用,大多数细胞色素 P450 基因参与杀虫剂抗性主要表现为在抗性品系中相关 mRNA 或蛋白质水平的增加,从而导致细胞色素单氧酶解毒作用增强。从理论上讲,转录增强、mRNA 及蛋白质的稳定性增强等均可以实现这些基因表达的增加,从而使蚊虫抗药性增强。

在对 *CYP4* 家族基因的研究中,Ranson 等人^[3]在冈比亚按蚊 rtp2 位点内发现了 3 个 *CYP4* 基因参与拟除虫菊酯抗性的表达,使得这些基因在抗性蚊虫中的蛋白含量是敏感蚊虫的几十倍,但具体表达情况尚不清楚,仍需要进一步的研究。

而对于 *CYP6* 家族基因,同样地,Ranson 等人^[3]在 rtp2 位点内也发现了 14 个 *CYP6* 家族基因,其中,*CYP6Z1* 基因在抗性蚊虫中高表达^[11]。Wondji 等人^[1]在不吉按蚊中对一段 120 kb 序列扫描发现,*CYP6P9*、*CYP6P4*、*CYP6AA4* 和 *CYP6P1* 基因在抗感蚊虫中的表达变化具有统计学意义($p < 0.001$),其中 *CYP6P9*、*CYP6P4* 和 *CYP6AA4* 基因在抗性蚊虫中高表达,而 *CYP6P1* 基因在感性蚊虫中高表达。非常有趣的是,不管在感性还是抗性蚊虫中,*CYP6P9* 基因比 *CYP6P4* 基因有更高的表达水平^[22]。rp1 位点附近有 9 个细胞色素 P450 基因,rp2 位点有 21 个细胞色素 P450 基因和 1 个管家基因(即 *SP7*),这些基因均参与抗性表达,而 rp3 位点附近无任何抗性基因存在,离它最近仅仅是一个微管结合基因和 β 3-微管蛋白基因^[23]。Hunt 等人^[24]在蚊虫的成虫、蛹和幼虫中进行 qPCR 实验,并对表达谱进行分析,结果发现 *CYP6P9*、*CYP6P4*、*CYP6AA4* 和 *CYP6P1* 基因在抗感蚊虫中的表达差异具有统计学意义,其中雌虫对拟除虫菊酯抗药性比雄虫强。与其他生活周期相比,蛹期各基因表达水平较低;在幼虫期,只有 1 个基因是差异表达的,其他基因的表达情况基本一致;在成虫期,*CYP6P9* 基因在抗感蚊虫中是差异表达的^[25]。这一结果表明在不同发育期,抗性候选基因在抗感蚊虫中的表达具有时期性和特异性。有研究者在不吉按蚊 rp2 位点内对 15 个细胞色素 P450 基因进行表达谱分析,发现这些候选基因能够影响抗性的表达^[26]。Saavedra-Rodriguez 等人^[20]在埃及伊蚊中也发现了抗性候选基因,但具体的表达还不清楚。

总之,QTL 内抗性候选基因在不同蚊种、不同时期及抗感蚊虫中的表达存在差异,这种现象与抗性基因表达的时期性和特异性相一致。多项研究表明,细胞色素 P450 基因这种复杂的调控状态使得该类基因在不同条件下具有不同的表达方式。虽然目前对抗性候选基因的研究较多,但具体的表达情况还尚不清楚,仍需要做进一步研究。表 1 显示了目前研究较多的冈比亚按蚊和不吉按蚊 rp1 位点内候选基因。

3.2 QTL 内候选基因的功能验证

目前有关蚊虫抗性候选基因功能方面的研究显示,抗性候选基因在蚊虫 QTL 内的表达和调控能力、对不同杀虫剂产生的抗药性等生理现象和生理过程中扮演重要的角色。

Riveron 等人^[8]通过基因芯片和 q-RTPCR 实验,发现在莫桑比克和马拉维地区不吉按蚊中,CYP6P9a 和 CYP6P9b 基因均是上调表达基因。在莫桑比克蚊虫中,CYP6P9b 基因具有较明显的上调表达,而 CYP6P9a 基因正好相反,表明 CYP6P9b 基因对莫桑比克蚊虫抗性的影响极为明显;与之相反的是,CYP6P9a 基因在马拉维蚊虫中影响较大。埃及伊蚊和致倦库蚊(*Culex quinquefasciatus*)细胞色素 P450 基因扩增机制的研究报道,未发现 CYP6P9a 和 CYP6P9b 基因的表达,说明这种上调表达并不是通过基因扩增引起,而是通过一些潜在的顺式作用元件调控所控制的。通过转基因手段,将 CYP6P9a 和 CYP6P9b 基因转到黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)中,发现 CYP6P9a 和 CYP6P9b 基因能够表达,使类型 I (氯菊酯和联苯菊酯)和类型 II (溴氰菊酯和高效氯氟氰菊酯)的代谢抗性增强,推测 CYP6P9a 和 CYP6P9b 基因在抗性蚊虫中也有较高的表达。抗性候选基因除了能在一些特殊组织(如马氏管、脂肪体和中肠)中表达,在其他组织中也可以表达^[8]。除了 CYP6P9a 和 CYP6P9b 基因,其他基因也参与抗性的表达,如 CYP9J11 基因等。上述结果表明,CYP6P9a 和 CYP6P9b 基因均是上调表达的,这种上调表达的基因与杀虫剂抗性密切相关。

表 1 不吉按蚊和冈比亚按蚊 rp1 位点内候选基因
Tab.1 Candidate genes of *A. funestus* and *A. gambiae*

| 物种 | 基因 |
|----------------------------|---|
| 不吉按蚊(<i>A. funestus</i>) | CYP6AA4、CYP6AA2、Esterase、CYP6P9a、CYP6P9b、CYP6P5、CYP6P4a、CYP6P4b、CYP6P1、CYP6P2、CYP6AD1、Lipase1 |
| 冈比亚按蚊(<i>A. gambiae</i>) | CYP6AA、CYP6AA2、Esterase、CYP6P3、CYP6P5、CYP6P4、CYP6P1、CYP6P2、CYP6AD1、Lipase1 |

Wondji 等人^[1]在 rp2 位点内发现了 3 个 *AfCYP6M1* 基因(*AfCYP6M1b*、*AfCYP6M1a* 和 *AfCYP6M1c*)与冈比亚按蚊的 3 个 *AgCYP6M1* 基因很相似,氨基酸相似率依次为 79%、82%和 83%。通过验证发现,这些对应基因的功能基本一致,均对抗药性产生一定的影响。Witzig 等人^[10]在阿拉伯按蚊(*Anopheles arabiensis*)rp1 位点内发现许多细胞色素 P450 基因均是高表达的;相比感性蚊虫,CYP6P4 基因在抗性蚊虫的表达量明显较高。后来有研究发现,该基因与不吉按蚊 CYP6P4 基因是同源基因^[8],表明该基因是 rp1 位点主要引起抗性增强的基因。

Witzig 等人^[10]还在阿拉伯按蚊 rp1 位点内发现了 25 个细胞色素 P450 候选基因,其中 8 个 CYP6 家族基因(CYP6P1、CYP6P2、CYP6P3、CYP6P4、CYP6P5、CYP6AA1、CYP6AD1 和 CYP6Z4)参与抗性的表达^[27-28]。进一步的验证研究显示,CYP6P4 基因在抗性蚊虫中是高表达的,而其他基因的表达状况基本一致,表明同家族抗性候选基因的表达虽然相似,但一些基因的表达存在差异性。结果表明这些细胞色素 P450 候选基因的主要功能是参与杀虫剂抗性代谢,同时对进一步研究杀虫剂抗性机制具有一定的指导意义。

4 小结与展望

目前关于蚊虫抗拟除虫菊酯 QTL 的研究取得了很大的进展,已经发展到了精细定位和克隆。为了更深入地探究抗性位点及抗性候选基因的表达,QTL 定位是当前一种有效地研究手段。本文在总结数量性状抗性位点及抗性候选基因的表达时发现,QTL 具有保守性:在不同蚊种和不同抗感品系中,对应的 QTL 在基因组上的物理位置相似,数目大体一致;同时,它们的遗传效应及抗性候选基因表达均相似。这为其他蚊种 QTL 的研究提供一种借鉴。以当前的研究背景作为参考,笔者认为将来蚊虫 QTL 定位研究需要思考的是如何合理地选择亲本,如何考虑所选用亲本的纯度和亲缘关系的远近,如何才能有效利用更多的种质资源和更广泛的遗传多样性,如何更精细地定位和验证,等等。因此,在现有方法的基础上,需要寻找新的研究手段。例如可采用高通量测序(Restriction-site associated DNA tags)构建遗传连锁图谱和 QTL 定位,并通过关联分析(Association analysis)解析蚊虫抗性位点及相关候选基因的表达模式,这对 QTL 定位的精度和广度、提供的信息量、统计分析方法等方面具有明显的互补性,并可针对特定的候选基因加以验证,加快抗性基因的鉴定和分离克隆,为深入探究数量性状的遗传学和分子生物学基础以及蚊虫抗药性的遗传分析提供新的契机。

参考文献:

- [1] Wondji C S, Coleman M, Kleinschmidt I, et al. Impact of pyrethroid resistance on operational malaria control in Malawi[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2012, 109(47):19063-19070.
- [2] Hemingway J, Ranson H. Insecticide resistance in insect vectors of human disease[J]. Annual Review of Entomology, 2000, 45(1):371-391.
- [3] Ranson H, Paton M, Jensen B, et al. Genetic mapping of genes conferring permethrin resistance in the malaria vector, *Anopheles gambiae* [J]. Insect Molecular Biology, 2004, 13(4):379-386.
- [4] Wondji C S, Irving H, Morgan J, et al. Two duplicated P450 genes are associated with pyrethroid resistance in *Anopheles funestus*, a major malaria vector[J]. Genome Res, 2009, 19(3):452-459.
- [5] Constant E A V, Koudou B G, Jones C M, et al. Resistance to all insecticide classes available for malaria control in a population of *Anopheles gambiae* from southern Côte d'Ivoire[J]. Emerging Infectious Diseases, 2012, 18(9):1508-1511.
- [6] Jamroz R, Guerrero F, Pruett J, et al. Molecular and biochemical survey of acaricide resistance mechanisms in larvae from Mexican strains of the southern cattle tick, *Boophilus microplus* [J]. Journal of Insect Physiology, 2000, 46(5):685-695.
- [7] Vontas J, Small G, Hemingway J. Glutathione S-transferases as antioxidant defence agents confer pyrethroid resistance in *Nilaparvata lugens* [J]. Biochem J, 2001, 357(Pt1):65-72.
- [8] Riveron J M, Irving H, Ndula M, et al. Directionally selected cytochrome P450 alleles are driving the spread of pyrethroid resistance in the major malaria vector *Anopheles funestus*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2013, 110(1):252-257.
- [9] Witzig C, Wondji C S, Strode C, et al. Identifying permethrin resistance loci in malaria vectors by genetic mapping[J]. Parasitology, 2013, 140(12):1468-1477.
- [10] Witzig C, Parry M, Morgan J C, et al. Genetic mapping identifies a major locus spanning P450 clusters associated with pyrethroid resistance in *kdr*-free *Anopheles arabiensis* from Chad[J]. Heredity, 2013, 110(4):389-397.
- [11] Ranson H, Jensen B, Vulule J, et al. Identification of a point mutation in the voltage-gated sodium channel gene of Kenyan *Anopheles gambiae* associated with resistance to DDT and pyrethroids [J]. Insect Molecular Biology, 2000, 9(5):491-497.
- [12] Djouaka R F, Bakare A A, Coulibaly O N, et al. Expression of the cytochrome P450s, *CYP6P3* and *CYP6M2* are significantly elevated in multiple pyrethroid resistant populations of *Anopheles gambiae* ss from Southern Benin and Nigeria[J]. BMC Genomics, 2008, 9(1):538.
- [13] Gorman M J, Severson D W, Cornel A J, et al. Mapping a quantitative trait locus involved in melanotic encapsulation of foreign bodies in the malaria vector, *Anopheles gambiae* [J]. Genetics, 1997, 146(3):965-971.
- [14] Darvasi A, Soller M. Advanced intercross lines, an experimental population for fine genetic mapping[J]. Genetics, 1995, 141(3):1199-1207.
- [15] Wondji C S, Morgan J, Coetzee M, et al. Mapping a quantitative trait locus (QTL) conferring pyrethroid resistance in the African malaria vector *Anopheles funestus* [J]. BMC Genomics, 2007, 8(1):1-14.
- [16] Lander E S, Botstein D. Homozygosity mapping, a way to map human recessive traits with the DNA of inbred children[J]. Science, 1987, 236(4808):1567-1570.
- [17] Lincoln S, Lander E. Mapping genes controlling quantitative traits using MAPMAKER/QTL[CP/DK]. Cambridge: Whitehead Institute for Biomedical Research, 1990.
- [18] Wondji C S, Hunt R H, Pignatelli P, et al. An integrated genetic and physical map for the malaria vector *Anopheles funestus*[J]. Genetics, 2005, 171(4):1779-1787.
- [19] Severson D W, Mori A, Zhang Y, et al. Chromosomal mapping of two loci affecting filarial worm susceptibility in *Aedes aegypti* [J]. Insect Molecular Biology, 1994, 3(2):67-72.
- [20] Saavedra-Rodriguez K, Strode C, Flores Suarez A, et al. Quantitative trait loci mapping of genome regions controlling permethrin resistance in the mosquito *Aedes aegypti* [J]. Genetics, 2008, 180(2):1137-1152.
- [21] Ranson H, Nikou D, Hutchinson M, et al. Molecular analysis of multiple cytochrome P450 genes from the malaria vector, *Anopheles gambiae* [J]. Insect Molecular Biology, 2002, 11(11):409-418.
- [22] Nikou D, Ranson H, Hemingway J. An adult-specific CYP6 P450 gene is overexpressed in a pyrethroid-resistant strain of the malaria vector *Anopheles gambiae*[J]. Gene, 2003, 318(1):91-102.
- [23] Sharakhov I V, Serazin A C, Grushko O G, et al. Inversions and gene order shuffling in *Anopheles gambiae* and *A. funestus*[J]. Science, 2002, 298(5591):182-185.
- [24] Hunt R, Brooke B, Pillay C, et al. Laboratory selection for and characteristics of pyrethroid resistance in the malaria vector *Anopheles funestus*[J]. Medical and Veterinary Entomology, 2005, 19(3):271-275.

- [25] Amenya D, Naguran R, Lo T, et al. Over expression of a cytochrome P450 (*CYP6P9*) in a major African malaria vector, *Anopheles funestus*, resistant to pyrethroids[J]. Insect Molecular Biology, 2008, 17(1): 19-25.
- [26] Irving H, Riveron J M, Ibrahim S S, et al. Positional cloning of rp2 QTL associates the P450 genes *CYP6Z1*, *CYP6Z3* and *CYP6M7* with pyrethroid resistance in the malaria vector *Anopheles funestus*[J]. Heredity, 2012, 109(6): 383-392.
- [27] Müller P, Warr E, Stevenson B J, et al. Field-caught permethrin-resistant *Anopheles gambiae* overexpress *CYP6P3*, a P450 that metabolises pyrethroids[J]. PLoS Genetics, 2008, 4(11): 1000286.
- [28] Duangkaew P, Pethuan S, Kaewpa D, et al. Characterization of mosquito *CYP6P7* and *CYP6AA3*; differences in substrate preference and kinetic properties[J]. Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 2011, 76(4): 236-248.

Animal Sciences

The Progress of Quantitative Trait Loci for Mosquitoes Pyrethroid Resistance

LIU Baiqi, CHEN Bin, QIAO Liang

(Institute of Entomology and Molecular Biology, Chongqing Key Laboratory of Animal Biology,
Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China)

Abstract: Mosquitoes as the important medical insects posed a great harm on human health. In recent years, due to the extensive use of pyrethroid insecticides, insecticide resistance occurred in mosquitoes. To illustrate the complicated molecular basis and hereditary character of the pyrethroid resistance, a new method named quantitative trait loci (QTL) mapping to analyze. The latest developments of QTL studied in mosquito pyrethroid resistance during recent years, including the theoretical basis of mosquito QTL mapping studies; QTL mapping identified resistance locus and the expression and regulatory analysis of the resistant genes. Researches on mosquito resistance to pyrethroids QTL developed rapidly in recent years, the research results have important implications for the controlling of mosquito vectors to prevent diseases. On the basis of the current methods, a restriction-site associated DNA tags sequencing and association analysis to mosquito QTL, in order to further explore the mosquito resistance to provide a new opportunity.

Key words: mosquitoes; pyrethroid resistance; quantitative trait loci; resistance gene; comparative analysis

(责任编辑 方 兴)