

# 目 录

## 昆虫生理生化与分子生物学

小菜蛾 <i>PxSROE</i> 基因的鉴定及其功能分析.....	赖颖芳 等 1
意大利蜜蜂工蜂中肠 SNP 和 InDel 突变位点的挖掘及分析.....	郭意龙 等 2
短神经肽 F 受体 (sNPFR) 参与调控桔小实蝇觅食行为.....	栗洪飞 等 3
赤拟谷盗神经肽 F 信号系统鉴定及功能初探.....	郑莉莎 等 4
意大利蜜蜂工蜂中肠 piRNA 的鉴定与分析.....	隆 琦 等 5
微小 RNA 介导意大利蜜蜂幼虫响应蜜蜂球囊菌侵染的分子机制.....	郭 睿 等 6
小菜蛾绒毛膜蛋白 chorions 基因家族鉴定与分析.....	董诗杰 等 7
烟粉虱化学感受蛋白 CSP2 的功能和进化特征研究.....	李峰奇 等 8
蟋类昆虫的转录组研究进展.....	张茂森 等 9
蜘蛛 AChBPs 蛋白的表达与纯化.....	王 宇 等 10
桔小实蝇感受 1-辛烯-3-醇的分子机制.....	徐 丽 等 11
小菜蛾 <i>Pxpiwi</i> 基因启动子序列的克隆及分析.....	刘 丹 等 12
饥饿引起小菜蛾幼虫取食同类的分子机制初探.....	褚雪梅 等 13
小菜蛾 dsRNA 降解酶启动子的克隆及功能分析.....	李健文 等 14
家蚕 FK506 结合蛋白的表达及纯化.....	李浩岑 等 15
柑桔全爪螨平行转移基因鉴定及 RNAi 靶标潜力评价.....	杨婉君 等 16
日本弓背蚁交哺液中内源性物质的溯源分析.....	许雯婧 等 17
滞育及不同虫态下平腹小蜂内参基因的筛选.....	刘子欣 等 18
唾液蛋白血红蛋白过氧化物酶促进蚜虫取食的功能研究.....	杨 莉 等 19
蟑螂钠离子通道 $\beta$ 亚基的表达与纯化.....	何 昭 等 20
桔小实蝇 clip 丝氨酸蛋白酶鉴定及功能探究.....	李 伟 等 21
中国白纹伊蚊种群遗传结构模式和感染 DENV-2 媒介能力研究.....	魏 勇 等 22
基于线粒体 COI 基因分析广州市 15 个白纹伊蚊种群的遗传多样性.....	郑梓豪 等 23
基于纳米载体的体壁渗透法探索南京麋螨丝素基因的功能.....	李 霞 等 24
桃蚜糖基水解酶家族 1 <i>Myr</i> 与 <i>Lph</i> 的鉴定及功能研究.....	彭媛媛 等 25
小菜蛾眼色素合成通路基因 <i>kmo</i> 和 <i>cardinal</i> 的鉴定与功能验证.....	徐雪娇 等 26
抗菌肽介导 <i>Nardonella</i> 共生菌细胞膜界面物质运输机制的研究.....	郭丽萍 等 27
红棕象甲识别聚集信息素的外周嗅觉分子机制.....	纪田亮 等 28
中华蜜蜂 <i>malvolio</i> 基因定位与表达特性揭示其在蜜蜂分工中的潜在作用.....	马卫华 等 29
苹果蠹蛾精巢特异性基因的筛选及表达模式分析.....	魏子涵 等 30

基于分子模拟技术提高昆虫嗅觉蛋白质鉴定精度并揭示其配体识别机制..... 李 迁 等 31

## 昆虫发育与遗传学

- 丽草蛉滞育不同时期的转录组差异分析 ..... 王亚南 等 32
- 两步平衡方法冷冻蜜蜂精液的研究 ..... 庄明亮 等 33
- 光照对昆虫生长发育影响的研究进展 ..... 纪宇桐 等 34
- m<sup>6</sup>A 调控小菜蛾生殖力并影响其适应寄主能力 ..... 王贝贝 等 35
- 三种微小 RNA 在意大利蜜蜂工蜂蛹期发育过程中的表达谱及潜在功能 ..... 祝智威 等 36
- GATA 家族转录因子调控昆虫生殖行为的分子机制 ..... 张松斗 等 37
- 精液丝氨酸蛋白酶同系物 *PxSPH-1* 在小菜蛾生殖调控中的作用 ..... 刘莉莉 等 38
- 基于褐飞虱羽化行为节律的生物钟机制研究体系探究 ..... 黄 旭 等 39
- 两种云南松切梢小蠹胚后发育阶段表皮碳氢化合物分析 ..... 张梦蝶 等 40
- 广州季节性气候变化对白纹伊蚊发育和 DENV-2 易感性的影响 ..... 郑学礼 等 41
- Cryptochrome 1* 对褐飞虱翅型分化的调控功能及潜在机制探究 ..... 曾路影 等 42
- 不同植物对草地贪夜蛾生长发育及其唾液蛋白基因表达的影响 ..... 蔡香云 等 43
- 橘小实蝇肠道真菌多样性及其对宿主的功能 ..... 顾 健 等 44

## 昆虫生态与农业昆虫

- 豇豆蓟马的高效防控技术研究 ..... 黄立飞 等 45
- 普通大蓟马成虫气味对子代性比的影响 ..... 杨鹤鸣 等 46
- 北京樱桃园果蝇种类组成和种群动态调查 ..... 杨 帆 等 47
- 进化和生态因子对高山草甸植物-熊蜂传粉网络的影响研究 ..... 梁 欢 48
- 基于全长转录组的长白山东方蜜蜂越冬耐寒适应性分析 ..... 刘楠楠 等 49
- 梨小食心虫成虫复眼的超微结构观察 ..... 杨小凡 等 50
- 入侵昆虫草地贪夜蛾对湖南省主要农作物的产卵和取食选择研究 ..... 黄至畅 等 51
- 栎黄枯叶蛾和沙棘木蠹蛾种间互作生理研究 ..... 高 飞 等 52
- 中国中部山地蝎蛉避难所探寻 ..... 高 凯 等 53
- 烟草响应多食性昆虫棉铃虫和寡食性昆虫烟青虫取食的防御反应研究 ..... 李亚璐 等 54
- 蓟马对 13 种寄主植物挥发物的行为选择反应 ..... 王 怡 等 55
- 海拔梯度下传粉昆虫喙长-花管长特征匹配的变化研究 ..... 赵延会 等 56
- 滇西北高海拔地区访花昆虫的双峰活动模式研究 ..... 徐 鑫 等 57
- 鸡嗉子榕小蜂表皮碳氢化合物的性二型及季节变化 ..... 谢 华 等 58
- 寄主营养介导柑橘木虱体色多态性研究 ..... 范家瑶 等 59

桔小实蝇适应低温的生物学特性及机制探究..... 马云鹏 等 60

## 生物防治

广西桑园主要病虫害绿色防控技术研究..... 杨 朗 等 61

不同品种烟草对斑痣悬茧蜂生活史的影响..... 李晓红 等 62

利用草地贪夜蛾等寄主卵扩繁夜蛾黑卵蜂的研究进展..... 井晓宇 等 63

蠋蝽替代猎物及人工饲料的优化研究..... 周 磊 等 64

捕食蝽滞育的研究进展..... 贺玮玮 等 65

天敌昆虫草蛉生物防治应用研究进展..... 刘小平 等 66

利用植保无人机开展甘蔗蓟马防控田间效果评价..... 罗志明 等 67

植物次生代谢物质黄酮和 Bt 毒素 Cry1Ab 对草地贪夜蛾的联合和诱导作用..... 何海波 等 68

黄酮、Vip3A 和甲维盐对草地贪夜蛾的联合诱导作用..... 皇开源 等 69

靶向蚜虫 dsRNA 对龟纹瓢虫的安全性评估..... 王自国 等 70

东亚小花蝽三种防御性内源物质对大豆蚜和异色瓢虫的刺激响应..... 许 玲 等 71

甘蔗蓟马人工饲养技术研究..... 尹 炯 等 72

麦蛾茧蜂防治粉斑螟的防控潜力评价..... 何梦婷 等 73

中华卵素线虫体内培养技术的研究..... 黎彩霞 等 74

## 药剂毒理

亚致死浓度氟啶虫胺腈对茶翅蝽生长繁殖和解毒酶的影响..... 王泽华 等 75

转录组测序分析氯虫苯甲酰胺对草地贪夜蛾的亚致死效应..... 徐 鹿 等 76

保幼激素介导的利巴韦林对斜纹夜蛾的毒力机制..... 李冬植 等 77

小菜蛾中肠 Bt 抗性相关 miRNA 的鉴定与分析..... 杨 婕 等 78

Bt 毒蛋白 Cry1Ac 和植物次生物质花椒毒素的联合/诱导作用的类型及其机制.. 任雨冬 等 79

黄酮对棉铃虫解毒代谢酶的诱导及其调控机制..... 张瑜婷 等 80

吡虫啉和噻虫嗪对大豆蚜种群发育和繁殖的影响..... 张傲楠 等 81

桔小实蝇 *UGT301D2/UGT429A1* 在马拉硫磷抗性中的功能..... 陈梦玲 等 82

柑桔全爪螨田间种群对阿维菌素的抗性遗传及交互抗性..... 刘巽燕 等 83

氟啶虫酰胺对棉蚜的亚致死效应研究..... 王诗淇 等 84

氰戊菊酯诱导棉铃虫 *CYP6B7* 基因表达的顺式元件和反式因子鉴定和功能验证... 黄 云 等 85

## 昆虫微生物组学与昆虫基因组学

低等六足动物无全基因组复制..... 靳建锋 等 86

低等六足动物系统发育基因组学初步研究..... 杜诗雨 等 87

利用低深度基因组数据探究平坦蜂属 ( <i>Homalictus</i> ) 淡脉隧蜂属 ( <i>Lasioglossum</i> ) 之间的系统发育关系 (膜翅目: 隧蜂科) .....	张 丹 等 88
利用 PacBio 单分子实时测序技术揭示蜜蜂球囊菌孢子中转录组的复杂性 .....	孙明会 等 89
东方蜜蜂微孢子虫毒力因子相关基因和全长转录本的鉴定及分析 .....	余尚骏 等 90
东方蜜蜂微孢子虫的 SNP 与 InDel 位点鉴定及分析 .....	张文德 等 91
东方蜜蜂微孢子虫 microRNA 的全转录组鉴定与分析 .....	张文德 等 92
基于 PacBio 测序数据的蜜蜂球囊菌转录因子、融合基因及 RNA 编辑位点的鉴定 .....	吴 鹰 等 93
过表达和敲减 <i>ame-miR-13b</i> 对意大利蜜蜂幼虫肠道内基因表达的影响 .....	王 杰 等 94
基于第三代长读段测序数据解析蜜蜂球囊菌基因的可变剪切与可变腺苷酸化 ..	王 杰 等 95
利用第三代纳米孔长读段测序技术构建和注释蜜蜂球囊菌的全长转录组 .....	祝智威 等 96
基于 PacBio 测序数据的蜜蜂球囊菌 SNP 与 InDel 位点发掘及分析 .....	蔡宗兵 等 97
蜜蜂球囊菌菌丝和孢子中环状 RNA 的鉴定及比较分析 .....	蒋海滨 等 98
微小 RNA 介导意大利蜜蜂工蜂与东方蜜蜂微孢子虫之间的跨界调控 .....	范小雪 等 99
东方蜜蜂微孢子虫基因的可变剪接及可变腺苷酸化解析 .....	范小雪 等 100
基于纳米孔全长转录组数据完善东方蜜蜂微孢子虫的基因组注释 .....	范元婵 等 101
蜜蜂球囊菌中长链非编码 RNA 的调控作用 .....	范元婵 等 102
小地老虎携带病毒种类鉴定与遗传多样性 .....	杨 帆 等 103
蚜虫中布尼亚病毒 ABV-1 的发掘及互作关系研究 .....	安 欣 等 104
茶黑刺粉虱内共生菌 <i>Wolbachia</i> 的分子检测 .....	张 勇 等 105
<i>Heterorhabditis megidis</i> REDY63 品系及其共生菌的性质研究 .....	刘子琦 等 106
NimB2 和 TEP3 在红棕象甲血细胞中对 <i>Bacillus thuringiensis</i> 和 <i>Serratia marcescens</i> 的吞噬机理研究 .....	谭安然 等 107
利用基因驱动改变和抑制种群的挑战和机遇 .....	Jackson Champer 等 108
<b>资源昆虫</b>	
景颇胡蜂药酒制备改良与应用前景 .....	党菱婧 等 109

## 小菜蛾 *PxSROE* 基因的鉴定及其功能分析

赖颖芳<sup>1,2,3</sup> 王贝贝<sup>1,2,3</sup> 李珊珊<sup>1,2,3</sup> 乔庆旋<sup>1,2,3</sup> 焦璐<sup>1,2,3</sup> 何玮毅<sup>1,2,3\*</sup>

(1. 福建农林大学闽台作物有害生物生态防控国家重点实验室, 应用生态研究所, 福州 350002; 2. 福建农林大学教育部害虫生态防控国际合作联合实验室, 福州 350002; 3. 福建农林大学农业部闽台作物有害生物综合治理重点实验室, 福州 350002)

**摘要:** 昆虫在取食过程中会通过释放口腔分泌物中的特异性效应子来抑制植物的初级免疫反应。对于鳞翅目昆虫而言, 其口腔分泌物包括唾液与肠道回流液。前期通过对小菜蛾不同发育阶段和组织的转录组、幼虫肠道及其内容物的蛋白组开展研究, 发现在小菜蛾肠道高表达的蛋白中有一个蛋白 *PxSROE* 符合已有口腔分泌蛋白的特征。本研究旨在探究其在小菜蛾取食寄主植物过程中的表达与功能。通过 PCR 克隆 *PxSROE* 全长 cDNA 序列; 利用相关软件对蛋白质序列进行了分析; 利用 qRT-PCR 和 Western blot 对 *PxSROE* 基因与蛋白在小菜蛾不同发育阶段、幼虫不同组织中的表达模式进行分析; 通过 CRISPR/Cas9 技术对 *PxSROE* 基因进行编辑并探究该基因对小菜蛾取食植物的影响。经鉴定, 小菜蛾 *PxSROE* 基因全长为 816 bp, 预计编码 271 个氨基酸, *PxSROE* 蛋白具有一个信号肽。*PxSROE* 基因与蛋白在各个发育阶段均有表达, 其中在幼虫期表达量最高, 且中肠的表达量显著高于其他组织。胚胎注射成功筛选到 24 bp 缺失的突变纯合体。与野生型相比, 突变纯合体对寄主植物的适应能力显著降低。生物学参数结果显示, 取食萝卜子叶的第五天和第六天, 突变纯合体的幼虫平均虫重显著降低; 幼虫存活率显著降低; 幼虫发育历期显著性延长; 平均蛹重显著降低。这为进一步研究小菜蛾口腔效应蛋白抑制宿主化学防御的分子机理奠定了基础。

**关键词:** 小菜蛾, 效应蛋白, 协同进化

\*通讯作者, E-mail: wy.he@fafu.edu.cn

# 意大利蜜蜂工蜂中肠 SNP 和 InDel 突变位点的挖掘及分析\*

郭意龙<sup>1\*\*</sup> 张文德<sup>1</sup> 陈大福<sup>1,2\*\*\*</sup> 郭睿<sup>1,2\*\*\*</sup>

(1. 福建农林大学动物科学学院蜂学学院, 福州 350002; 2. 福建农林大学蜂疗研究所, 福州 350002)

**摘要:** 意大利蜜蜂 *Apis mellifera ligustica* 是西方蜜蜂 *Apis mellifera* 的亚种之一, 具有优良的生产性能, 在中国和其他养蜂国家广泛饲养, 但其健康易受到受到病毒、细菌、螨虫、农药、胡蜂等的威胁。本研究拟利用已获得的意蜂工蜂中肠的转录组数据对意蜂工蜂中肠的单核苷酸多态性 (Single nucleotide polymorphism, SNP) 和插入缺失 (Insertion-Deletion, InDel) 位点进行鉴定和分析, 旨在丰富意蜂工蜂中肠的 SNP 和 InDel 位点信息, 以为意蜂相关疾病防治提供分子靶标。使用 GATK4.0 软件识别意蜂工蜂中肠的突变碱基, 再采用 ANNOVAR (2018Apr16) 软件对 SNP 和 InDel 位点进行统计分析。再通过相关生物信息学软件将本次研究获得的意蜂工蜂中肠 SNP 位点所在基因和 InDel 位点所在基因分别比对 GO 和 KEGG 数据库, 获得相应的功能和通路注释。共鉴定到 232 678 个 SNP 位点, 其中发生转换和颠换的 SNP 位点数分别为 196 087 和 36 591 个; 最丰富的突变类型是 G/A, 最少的突变类型为 T/G; 分布在内含子的 SNP 位点最多, 其次为外显子和基因间区; 密码子突变类型为同义突变的 SNP 位点数最多, 其次是非同义突变、终止子增加和终止子减少; 此外, SNP 位点所在基因可注释到代谢进程、细胞进程和单一组织进程等 50 个 GO 条目和代谢途径、次生代谢物的生物合成和碳代谢等 351 条 KEGG 通路。共鉴定到 38 715 个 InDel 位点, 最丰富的突变类型为移码插入, 其次是移码缺失; 分布 InDel 位点数较多的基因组区域为内含子和基因间区; 另外, InDel 位点所在基因可注释到代谢进程、细胞进程和单一组织进程等 49 个功能条目和代谢途径、次生代谢物的生物合成和不同环境中的微生物机制等 340 条通路。本次研究结果鉴定到意蜂工蜂中肠存在大量的 SNP 和 InDel 位点信息, 首次对意蜂的 InDel 位点信息进行报道, 丰富了西方蜜蜂的 SNP 位点信息, 并为开发和利用意蜂的新型分子标记提供理论支持。

**关键词:** 意大利蜜蜂, 单核苷酸多态性, 插入缺失突变, RNA-seq

\*基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项 (CARS-44-KXJ7); 福建农林大学硕士生导师团队项目 (郭睿); 江西省应用研究培育计划 (20181BBF68003)

\*\*第一作者, E-mail: fafu13488295779@163.com

\*\*\*共同通讯作者, E-mail: ruiguo@fafu.edu.cn; dfchen826@fafu.edu.cn

# 短神经肽 F 受体 (sNPFR) 参与调控桔小实蝇觅食行为

栗洪飞<sup>1,2</sup> 黄杏莹<sup>1,2</sup> 吴双雄<sup>1,2</sup> 陈晓凤<sup>1,2</sup> 王进军<sup>1,2</sup> 蒋红波<sup>1,2,\*</sup>

(1. 西南大学植物保护学院, 2. 西南大学农业科学研究院, 重庆 400716)

**摘要:** 桔小实蝇是严重威胁世界果蔬产业的入侵害虫, 其强大的觅食能力是其成功入侵和快速扩张的重要原因。然而, 桔小实蝇觅食行为的分子生理学机制至今仍不清楚。我们前期研究发现, 短神经肽 F 受体 (short neuropeptide F receptor, *sNPFR*) 在桔小实蝇中枢神经系统和触角中显著性高表达, 暗示其可能参与调控桔小实蝇的嗅觉行为。运用 CRISPR/Cas9 系统, 获得 *sNPFR* 敲除突变体, 继而对桔小实蝇突变体和野生型进行比较组学分析, 结合免疫组化技术, 触角电位 (EAG) 测定及桔小实蝇觅食行为测定, 明确 *sNPFR* 对桔小实蝇觅食行为的重要调控作用。桔小实蝇突变体对多种气味物质的 EAG 响应显著下降, 且觅食能力显著下降, 具体表现为觅食成功率降低, 觅食时长增加。与之对应, *sNPFR* 表达于触角嗅觉神经元 (ORNs) 中, 且桔小实蝇 *sNPFR* 的敲除导致 7 个嗅觉受体 (*ORs*) 的表达量显著降低, 其中包括嗅觉共受体 *Orco*。*sNPFR* 在 ORNs 中表达, 其通过影响 *OR* 的表达, 尤其是 *Orco* 的表达参与调控桔小实蝇的觅食行为。明确 *sNPFR* 对桔小实蝇嗅觉行为的影响, 有望为靶向实蝇嗅觉系统开发新型行为控制剂提供新的靶标。

**关键词:** 桔小实蝇, 觅食行为, *sNPFR*, *OR*

\*通讯作者, E-mail: jhb8342@swu.edu.cn

# 赤拟谷盗神经肽 F 信号系统鉴定及功能初探

郑莉莎 刘格格 黄千巧 王进军 蒋红波\*

(西南大学植物保护学院, 西南大学农业科学研究院, 重庆 400700)

**摘要:** 神经肽 F (*Neuropeptide F, NPF*) 信号系统参与调控昆虫的取食、觅食、交配、节律和迁飞等重要的生理行为。本研究旨在鉴定赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* 神经肽 F (*TcNPF1/2*) 及其受体 (*TcNPFR*) 的核酸序列, 探究其在赤拟谷盗中所行使的功能。通过赤拟谷盗基因组数据分析鉴定 *TcNPF* 的开放阅读框序列, 利用 PCR 克隆获得 *TcNPFR* 的 3 个亚型; 利用真核表达以及细胞内钙流测定技术测定 *TcNPF1/2* 与 3 种 *TcNPFR* 受体的结合能力; 利用免疫组化定位 *TcNPF* 信号系统在赤拟谷盗内部组织中的分布; 利用 RNAi 技术探究 *TcNPF* 信号系统所行使的生理功能。序列分析结果显示, *TcNPF1* 与 *TcNPF2* 相比在第 155 bp 后插入了一个长 114 bp 的外显子。*TcNPF1* 和 *TcNPF2* 分别编码长度为 22 和 28 个氨基酸残基的成熟肽, 其 C 端均酰胺化。NCBI 预测结果显示 *TcNPFR* 共有 4 种亚型, 其编码区长度分别为 1 137 bp、1 200 bp、1 239 bp 和 1 380 bp, 我们克隆得到了除 1 137 bp 外的 3 种亚型, 并分别构建到 pcDNA3.1 (+)载体上。胞内钙流测定结果表明 2 种成熟肽均能引起分别表达 3 种亚型的 CHO 细胞的钙流反应, 其中 *TcNPF1* 和 *TcNPF2* 与 *TcNPFRx3* 亚型的结合能力最强, 其 EC<sub>50</sub> 值分别为 39.9 nM 和 14.1 nM。免疫组化结果显示 *TcNPF* 信号系统在赤拟谷盗的脑和腹神经节中均有分布, *TcNPF1/2* 在肠道内分泌细胞中表达, 在中肠后端的大量细胞膜上观察到强烈的 *TcNPFR* 信号。在 RNAi 实验中, 干扰 *TcNPF2* 和 *TcNPFR* 均导致赤拟谷盗的取食量和重量显著降低, 成虫在羽化后 7-9 天内全部死亡, 而干扰 *TcNPF1* 后未观察到相似的表型。*TcNPF* 信号系统在赤拟谷盗成虫 CNS 和中肠中均有分布, *TcNPF2* 可能通过与 *TcNPFR* 结合参与调控赤拟谷盗的取食并影响重量的变化, 而 *TcNPF1* 的功能还需进一步探究。

**关键词:** 神经肽 F, G 蛋白偶联受体, 赤拟谷盗, RNAi

\*通讯作者, E-mail: jhb8342@swu.edu.cn

# 意大利蜜蜂工蜂中肠 piRNA 的鉴定与分析\*

隆琦\*\* 孙明会<sup>1</sup> 陈大福<sup>1,2\*\*\*</sup> 郭睿<sup>1,2\*\*\*</sup>

(1. 福建农林大学动物科学学院蜂学学院, 福州 350002; 2. 福建农林大学蜂疗研究所, 福州 350002)

**摘要:** Piwi 蛋白互作 RNA (piRNA) 在昆虫的发育和免疫等重要生物学过程发挥调控作用。本研究旨在丰富西方蜜蜂 *Apis mellifera* 的 piRNA 信息, 为进一步探究差异表达 piRNA (Differentially expressed piRNA, DEpiRNA) 调控意大利蜜蜂 *Apis mellifera ligustica* 工蜂中肠发育的分子机理提供基础。基于已获得的意大利蜜蜂 7 日龄 (Am7) 和 10 日龄 (Am10) 工蜂中肠的小 RNA (sRNA) 组学数据对的 piRNA 进行预测和分析。将质控后的 sRNA 数据比对西方蜜蜂 *Apis mellifera* 参考基因组, 再将比对上的序列标签进一步比对数据库以滤除 rRNA 等非编码 RNA, 进而根据 piRNA 的长度特征鉴定 piRNA。采用每百万标签序列算法对 piRNA 表达量进行归一化处理。根据  $|\log_2 \text{fold change}| \geq 1$  且  $P \leq 0.05$  的标准筛选 DEpiRNA。并进行 DEpiRNA 的靶 mRNA 的预测及 GO 和 KEGG 数据库注释。对 DEpiRNA-mRNA 调控网络进行可视化。随机选取 6 个 piRNA 进行 RT-qPCR 验证。利用 RT-qPCR 对随机挑选的 7 个 DEpiRNA 进行验证。共鉴定意大利蜜蜂的 596 个 piRNA, 上述 piRNA 的长度介于 24 nt-33 nt, 且 Am7 和 Am10 组中不同长度分布范围的 piRNA 的首位碱基偏向性具有明显差异。在 Am7 vs Am10 比较组共筛选出 41 个 DEpiRNA, 其中 piR-ame-11093、piR-ame-1111451、piR-ame-190949 和 piR-ame-932156 可分别靶向 1 195、1 018、4 040 和 1 063 条 mRNA。上述靶 mRNA 可分别注释到 45 个功能条目和 45 条通路。RT-PCR 验证结果显示 6 个 piRNA 均真实表达且 6 个 DEpiRNA 的表达趋势与测序数据中的表达趋势一致, 证实了本研究中 sRNA-seq 数据的可靠性和 piRNA 差异表达趋势的真实性。首次在意大利蜜蜂工蜂中肠中鉴定到 596 个 piRNA, 其中 piR-ame-11093、piR-ame-1111451、piR-ame-190949 和 piR-ame-932156 具有靶向调控基因表达参与工蜂中肠发育过程的潜力。

**关键词:** 西方蜜蜂, 意大利蜜蜂, 非编码 RNA, piRNA, 中肠, 鉴定

\*基金项目: 国家自然科学基金 (32172792; 31702190); 国家现代农业产业技术体系建设专项 (CARS-44-KXJ7); 福建农林大学硕士生导师团队项目 (郭睿); 福建省病原真菌与真菌毒素重点实验室开放课题 (郭睿)

\*\*第一作者, E-mail: 11070190695@126.com

\*\*\*通讯作者, E-mail: ruiguo@fafu.edu.cn; dfchen826@fafu.edu.cn

# 微小 RNA 介导意大利蜜蜂幼虫响应 蜜蜂球囊菌侵染的分子机制\*

郭睿<sup>1,2\*\*</sup> 杜宇<sup>1</sup> 陈大福<sup>1,2\*\*\*</sup>

(1. 福建农林大学动物科学学院蜂学学院, 福州 350002; 2. 福建农林大学蜂疗研究所, 福州 350002)

**摘要:** 通过深度测序技术对蜜蜂球囊菌接种和未接种的意大利蜜蜂 *Apis mellifera ligustica* (意蜂) 幼虫肠道进行测序和分析, 并利用分子生物学手段对宿主的关键差异表达 miRNA (DEmiRNA) 进行功能探究, 以期深入阐释微小 RNA 介导意蜂幼虫响应蜜蜂球囊菌侵染的分子机制。利用纯化的病原孢子对 3 日龄幼虫进行饲喂接种, 统计不同浓度孢子接种后宿主的存活率, 对未接种及接种的 4–6 日龄幼虫肠道进行深度测序, 解析宿主的 miRNA 差异表达谱及调控网络, 并对筛选出来的关键 DEmiRNA 进行验证和功能研究, 进而通过预测和分析宿主高表达 miRNA (HmiRNA) 靶向的病原 mRNA 探讨宿主对病原的跨界调控作用。含病原孢子 (浓度为  $1 \times 10^7$  个/mL) 的饲料饲喂后, 幼虫在 6 日龄时的存活率达 84.72%, 但在预蛹期的存活率降为 0。共鉴定到 694 个保守 miRNA 和 46 个新 miRNA, 长度分布介于 18 nt–25 nt。ame-miR-13b 和 ame-miR-3759 在 6 日龄比较组中分别显著下调和上调表达。ame-miR-13b 潜在负调控 Toll 信号通路中的 *Dorsal*。饲喂 ame-miR-13b 模拟物 (Mimic) 和 ame-miR-3759 Mimic 可对幼虫肠道内的靶标产生显著过表达效果, 并降低宿主被侵染后的存活率。宿主的 43 个高表达 miRNA (HmiRNA) 靶向 4 835 个病原 mRNA, 并潜在调控病原生长和毒力相关的几丁质酶、己糖激酶和 MAPK 信号通路。通过分子克隆和 Sanger 测序在幼虫体表长出的菌丝中验证出宿主来源的 5 个 HmiRNA。高剂量孢子饲喂接种及在宿主体内过表达 ame-miR-305 皆能显著提高菌丝对 ame-miR-305 的吸收。菌丝体内与 MAPK 信号通路及酶类相关的部分基因表达与菌丝体内 ame-miR-305 的表达呈正相关性。深入揭示了关键 miRNA 在意蜂幼虫应答蜜蜂球囊菌侵染中的功能及调控作用机制, 为白垩病诊疗提供了潜在新型生物标志物和分子靶点。

**关键词:** 微小 RNA, 蜜蜂, 白垩病, 蜜蜂球囊菌, 跨界调控

\*基金项目: 国家自然科学基金项目 (31702190); 国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (CARS-44-KXJ7)

\*\*第一作者, E-mail: ruiguo@fafu.edu.cn

\*\*\*通讯作者, E-mail: dfchen826@fafu.edu.cn

# 小菜蛾绒毛膜蛋白 chorions 基因家族鉴定与分析\*

董诗杰<sup>1,2,3,4\*\*</sup> 邹明民<sup>1,2,3,4</sup> 黄梦琦<sup>1,2,3,4</sup> 刘莉莉<sup>1,2,3,4</sup> 曹敏慧<sup>1,2,3,4</sup>

尤民生<sup>1,2,3,4\*\*\*</sup> 彭露<sup>1,2,3,4\*\*\*</sup>

(1. 福建农林大学, 闽台作物有害生物生态防控国家重点实验室, 福州350002; 2. 福建农林大学应用生态研究所, 福州350002; 3. 福建农林大学, 教育部害虫生态防控国际合作联合实验室, 福州350002; 4. 福建农林大学, 福建省昆虫生态重点实验室, 福州350002)

**摘要:** 鉴定小菜蛾*Plutella xylostella*绒毛膜蛋白chorion (PxCho) 基因家族, 解析该家族基因序列特征与表达模式, 为进一步探究PxCho在小菜蛾生殖过程中的功能提供理论基础。利用生物信息学分析与基因克隆验证, 筛选鉴定小菜蛾绒毛膜基因家族, 并分析其分子序列特征及进化关系; 利用转录组与RT-qPCR分析所有基因的表达模式。从小菜蛾基因组共鉴定A、B两类绒毛膜基因15个; 系统进化分析显示小菜蛾绒毛膜基因家族在鳞翅目中具有物种特异性。不同类型的绒毛膜基因大多以成对簇的排列方式定位于基因组Scaffold上, 部分基因对共用同一个启动子调控区。所有绒毛膜基因在小菜蛾雌成虫特异性表达, 尤其是在卵黄沉淀完全的卵巢中显著高表达。本研究明确了小菜蛾绒毛膜基因家族的序列特征、基因组定位、进化关系、转录因子与表达模式, 表明该家族基因可能在小菜蛾卵壳形成过程中起重要作用。

**关键词:** 小菜蛾, 绒毛膜基因, 表达模式, 卵子形成, 害虫控制

\*基金项目: 国家自然科学基金项目(31772166); 福建省自然科学基金项目(高校联合)(2019J01666); 福建农林大学杰出青年基金项目(Kxjq19003)

\*\*第一作者, E-mail: 1070766480@qq.com

\*\*\*通讯作者, E-mail: PL526520@163.com, msyou@fafu.edu.cn

# 烟粉虱化学感受蛋白 CSP2 的功能和进化特征研究

李峰奇 李都 渠成 罗晨\*

(北京市农林科学院植物保护环境保护研究所, 北京 100097)

**摘要:** 化学感受蛋白(chemosensory proteins, CSPs)是一种存在于昆虫中的疏水性蛋白, CSP 往往在昆虫嗅觉行为中执行了运载气味分子到达相应受体的功能。我们前期研究发现 CSP2 是在烟粉虱腹部高表达的一个化学感受蛋白。在此基础上, 我们克隆了烟粉虱的 CSP2 编码基因, 并利用原核表达系统, 表达纯化出了 CSP2 蛋白。利用荧光竞争结合实验, 发现 CSP2 能够与一种植物萜烯同系物 DMNT ((*E*)-3,8-dimethyl-1,4,7-nonatriene) 及其一系列类似物具有很好的结合能力。通过结构建模和分子模拟, 发现 CSP2 蛋白第十一位的酪氨酸是与 DMNT 互作的重要残基。通过定点突变和荧光结合实验证实了该氨基酸位点的重要性。

进一步通过 15 种半翅目昆虫的基因组和转录组大数据分析, 发现 CSP2 特异存在于半翅目的胸喙亚目和颈喙亚目昆虫当中, 并在粉虱和蚜虫所在分支呈现适应性进化特征。

利用烟粉虱行为学和生物学实验, 发现 DMNT 对烟粉虱具有一定的驱避作用, 且在 0.1 ng/ $\mu$ L 和 0.5 ng/ $\mu$ L 下具有抑制烟粉虱成虫产卵的活性。我们还评价了 DMNT 对烟粉虱寄生蜂丽蚜小蜂的行为调控活性, 发现其可以吸引丽蚜小蜂。综合这些研究, 发现 DMNT 可有效驱避烟粉虱产卵, 并可引诱烟粉虱的天敌, 对生态环境友好、安全, 可用于提高植物的抗虫能力。

**关键词:** 化学感受蛋白, (*E*)-3,8-dimethyl-1,4,7-nonatriene, 烟粉虱

\*通讯作者

# 蝽类昆虫的转录组研究进展\*

张茂森<sup>1</sup> 李玉艳<sup>1</sup> 贺玮玮<sup>1,2</sup> 周磊<sup>1,2</sup> 井晓宇<sup>1</sup> 张长华<sup>3</sup> 张礼生<sup>1\*\*</sup>

(1. 中国农业科学院植物保护研究所, 北京 100193; 2. 天津农学院, 天津 30038;

3. 贵州省烟草公司遵义市公司, 遵义 563099)

**摘要:** 蝽类属半翅目昆虫, 全世界已知种类有 3 万余种。大部分蝽是植食性害虫, 如稻绿蝽、绿盲蝽、梨网蝽等是农业上的主要害虫; 还有一部分蝽为捕食性, 如蠊蝽、益蝽、东亚小花蝽等是重要的天敌昆虫, 在防治农林业害虫中发挥重要作用。转录组是生物细胞或组织内全部的 RNA 转录本, 反映特定状态下的基因表达模式。通过高通量测序技术获得昆虫在不同发育阶段或生理条件下的转录组信息, 研究其基因表达水平、转录本结构变异等, 对昆虫的种类鉴定、发育特征分析、生理代谢机制解析等具有重要意义。利用转录组测序技术研究蝽类昆虫, 将为捕食蝽的发掘利用和害蝽防治提供理论参考。陈殿阳(2017)比较分析了绿盲蝽(*Apolygus lucorum* Meyer-Dür) 2 龄、4 龄若虫及成虫的转录组, 明确了绿盲蝽不同虫态的基因动态变化规律及特征基因, 为不同虫龄的防治方法研究具有重要参考价值。在捕食蝽转录组的研究方面, 黎东海(2019)基于已有的齿缘刺猎蝽(*Scloimina erinacea* Stål) 转录组数据, 成功设计出 2000 余对微卫星 DNA 引物, 通过微卫星筛选出特异 DNA 序列, 为齿缘刺猎蝽不同地理种群的鉴定奠定了基础。目前, 蝽类昆虫转录组研究涉及的种类仍较少、涉及研究内容不够宽泛、深度不够, 为深入蝽类的基础理论研究, 应加强转录组与基因组、蛋白组及代谢组等的多组学联合分析, 比较蠊蝽、益蝽在滞育和发育等不同生理状态的转录组学差异, 深入蠊蝽脂积累和生殖抑制的分子机理, 探索组学技术在害虫防治、天敌昆虫扩繁和利用等方面的应用, 为农业害虫综合治理提供理论和技术支撑。

**关键词:** 蝽类, 转录组, 基因表达模式, 基因功能

\*基金项目: 中国烟草总公司重大专项(201936, 201937, 201941, 110202001032 (LS-01))

\*\*通讯作者, E-mail: zhangleesheng@163.com

# 蜘蛛 AChBPs 蛋白的表达与纯化

王宇 尉迟之光\*

(天津大学药物科学与技术学院, 天津 300072)

**摘要:** 新烟碱类杀虫剂是全球市场占有率最高的一类杀虫剂, 其分子靶标为昆虫烟碱型乙酰胆碱受体 (nAChRs)。nAChRs 是配体门控的离子通道蛋白 (Ligand-gated ion channel)。作为膜蛋白, 其结构研究受限于其高难度的异源重组表达。乙酰胆碱结合蛋白 (AChBPs) 与 nAChRs 同为五聚体结构, 两者膜外配体结合结构域具有同源性。因此 AChBPs 通常作为研究 nAChRs 的结构模板。截至目前为止, 多个海洋软体动物的 AChBPs 的晶体结构已被解析。然而海洋软体动物与昆虫的亲缘性相距较远, 使用海洋软体动物 AChBPs 突变预测昆虫乙酰胆碱受体配体结合域的可靠性较差。最近研究发现, 拟环纹豹蛛 (*Pardosa pseudoannulata*) 也拥有 AChBPs 蛋白, 且其同源性更加接近昆虫 AChBPs。本研究克隆了野生型拟环纹豹蛛的 AChBP 基因以及模拟抗性突变型的 AChBP, 通过昆虫细胞进行了重组表达, 并通过亲和层析、离子交换层析和分子筛层析获得五聚体形式的纯化蛋白, 可用于进一步的生化功能和蛋白结构研究。本研究将为理解新烟碱类杀虫剂吡虫啉的作用机制以及 nAChRs 相关抗性突变的分子机理奠定基础。

**关键词:** 拟环纹豹蛛, AChBP, 新烟碱类杀虫剂, 抗性突变, 蛋白表达纯化

\*通讯作者, E-mail: yuchi@tju.edu.cn

# 桔小实蝇感受 1-辛烯-3-醇的分子机制

徐丽 蒋红波 王进军\*

(西南大学植物保护学院, 西南大学农业科学研究院, 重庆 400700)

**摘要:** 桔小实蝇 *Bactrocera dorsalis* 通过雌虫产卵器刺伤寄主植物果实并在果实内部产卵而危害寄主植物, 其产卵行为由成熟果实中的气味物质所调控。在桔小实蝇偏爱的寄主芒果中提取并分离到的 1-辛烯-3-醇可引诱妊娠桔小实蝇雌虫产卵, 本研究旨在探索桔小实蝇感受 1-辛烯-3-醇的分子机制, 为桔小实蝇新型雌虫引诱剂的开发提供新的靶标和理论基础。通过 CRISPR/Cas9 技术敲除 *Orco* 基因, 检测突变体在 1-辛烯-3-醇诱导下的产卵行为; 基于桔小实蝇触角深度转录组和基因组数据库注释嗅觉受体基因 (odorant receptor, OR); 通过气味诱导和桔小实蝇交配前后 ORs 的表达谱分析, 筛选可能识别 1-辛烯-3-醇的候选 ORs; 综合利用电压钳和钙离子成像技术测定候选 ORs 与 1-辛烯-3-醇的体外结合能力; 利用 CRISPR/Cas9 技术敲除重要 ORs, 比较突变体在 1-辛烯-3-醇诱导下的产卵行为, 最终挖掘桔小实蝇感受产 1-辛烯-3-醇的重要 ORs。桔小实蝇 *Orco*<sup>-/-</sup> 突变体对 1-辛烯-3-醇的触角电位反应显著下降, 且在 1-辛烯-3-醇诱导下的产卵量显著降低, 证明桔小实蝇通过嗅觉系统识别 1-辛烯-3-醇。基于桔小实蝇基因组和触角深度转录组数据, 预测得到 80 个 OR-like 基因, 在 1-辛烯-3-醇诱导下有 22 个基因的表达量显著上调, 此外, 有 24 个基因在桔小实蝇交配后的表达量显著上调。经电压钳和钙离子成像技术检测, *BdorOR6* 和 *BdorOR13a* 能与 1-辛烯-3-醇结合, 其 EC<sub>50</sub> 值分别为 15.6 μM 和 15.03 μM。利用 CRISPR/Cas9 技术敲除这两个基因后, *BdorOR6*<sup>-/-</sup> 和 *BdorOR13a*<sup>-/-</sup> 突变体在 1-辛烯-3-醇诱导下的产卵数量显著降低。*BdorOR6* 和 *BdorOR13a* 是桔小实蝇感受别 1-辛烯-3-醇的重要嗅觉受体, 其在 1-辛烯-3-醇的诱导下可调控桔小实蝇的产卵行为。

**关键词:** 桔小实蝇, 嗅觉受体, 苯并噻唑, 1-辛烯-3-醇

\*通讯作者, E-mail: wangjinjun@swu.edu.cn

# 小菜蛾 *Pxpiwi* 基因启动子序列的克隆及分析\*

刘丹<sup>1,2,3,4</sup> 陈金芝<sup>1,2,3,4</sup> 李健文<sup>1,2,3,4</sup> 褚雪梅<sup>1,2,3,4</sup> 方草<sup>1,2,3,4</sup> 杨广<sup>1,2,3,4\*\*</sup>

(1. 闽台作物有害生物生态防控国家重点实验室, 福建农林大学应用生态研究所, 福州 350002; 2. 教育部害虫生态防控国际合作联合实验室, 福建农林大学, 福州 350002; 3. 农业部闽台作物有害生物综合治理重点实验室, 福建农林大学, 福州 350002; 4. 害虫绿色防控福建省高等学校重点实验室, 福建农林大学, 福州 350002)

**摘要:** *Piwi* 蛋白在昆虫生殖腺体中高表达, 与生殖细胞的形成有关, 但昆虫 *Piwi* 基因启动子的研究还未见报道。本实验克隆和测序小菜蛾 *Piwi* 基因上游约 3kb 区域, 作为潜在的启动子 *PxpiwiP*; 利用启动子在线预测网站预测所克隆的序列的可能的转录因子结合位点, 根据结合位点将序列截断成 6 个不同长度的序列片段; 并构建其驱动 *Luciferase* 基因的瞬时表达载体, 转染到小菜蛾 DBM 细胞、草地贪夜蛾 Sf9 细胞和果蝇 S2 细胞, 测定 *Luciferase* 的荧光强度。实验结果克隆了长度为 3300bp 的潜在的 *PxpiwiP* 序列, 包含了 TATA 盒和 SP1、nub、Eip74EF、Ets21C、abd-B 等转录因子结合位点; 依据转录因子结合位点克隆 2 277 bp、1 597 bp、1 076 bp、561 bp、270 bp 和 159 bp 的启动子序列, 这些序列在三种细胞中都具有启动子活性, 其中以 561 bp 的序列启动活性最强; 进一步分析表明, 561 bp 至 2 277 bp 处存在色氨酸操纵子结合位点 Eip74EF 和 Ets21C, 可能为负调控元件。本研究成功克隆并分析了 *Pxpiwi* 的启动子序列, 确定了活性最强的启动子序列, 并发现了负调控元件, 为进一步确定 *Pxpiwi* 启动子的功能奠定基础。

**关键词:** *Pxpiwi* 启动子, 转录因子结合位点, 双荧光素酶报告基因系统

\*基金项目: 国家自然科学基金 (31772237)

\*\*通讯作者, E-mail: yxg@fafu.edu.cn

# 饥饿引起小菜蛾幼虫取食同类的分子机制初探\*

褚雪梅<sup>1,2,3,4</sup> 陈金芝<sup>1,2,3,4</sup> 刘丹<sup>1,2,3,4</sup> 李健文<sup>1,2,3,4</sup> 宋丹丹<sup>1,2,3,4</sup> 杨广<sup>1,2,3,4\*\*</sup>

(1. 闽台作物有害生物生态防控国家重点实验室, 福建农林大学应用生态研究所, 福州 350002; 2. 教育部害虫生态防控国际合作联合实验室, 福建农林大学, 福州 350002; 3. 农业部闽台作物有害生物综合治理重点实验室, 福建农林大学, 福州 350002; 4. 害虫绿色防控福建省高等学校重点实验室, 福建农林大学, 福州 350002)

**摘要:** 同类相食是一些昆虫进化出的应对生存压力的一种适应性行为。小菜蛾 (*Plutella xylostella*) 幼虫也有同类相食现象。植食性昆虫转变成肉食性昆虫表现出取食同类行为的机制尚不清楚, 但是胰岛素信号有助于果蝇中饥饿诱导的取食行为。本研究通过转录组测序技术, 分析正常和饥饿状态下的小菜蛾幼虫的基因差异表达情况, 与正常小菜蛾幼虫相比, 饥饿小菜蛾幼虫中显著差异基因有 2 557 条, 其中 1 011 条基因为上调表达, 1 547 条基因为下调表达。GO 分类注释表明, 这些差异表达基因主要参与代谢过程、细胞过程, 还涉及到与细胞组件、细胞膜组件以及分子结合相关的基因。进一步通过 KEGG 分析, 结果表明共有 1 658 个差异表达基因富集到 318 个通路, 其中包含了胰岛素信号通路, 差异表达基因显著富集于蛋白酶体、卟啉和叶绿素代谢、内质网中的蛋白质加工等通路随机从差异表达基因中筛选了 9 个候选基因进行 RT-qPCR 验证, 发现候选基因的表达模式与转录组测序结果一致。本研究的结果可为下一步选择候选基因探索取食同类行为的分子机制提供依据。

**关键词:** 小菜蛾幼虫, 饥饿, 转录组测序, RT-qPCR, 差异表达基因

\*基金项目: 国家自然科学基金(31772237)

\*\*通讯作者, E-mail: yxg@fafu.edu.cn

# 小菜蛾 dsRNA 降解酶启动子的克隆及功能分析\*

李健文<sup>1,2,3,4</sup> 陈金芝<sup>1,2,3,4</sup> 刘丹<sup>1,2,3,4</sup> 褚雪梅<sup>1,2,3,4</sup> 郝梦琦<sup>1,2,3,4</sup> 杨广<sup>1,2,3,4\*\*</sup>

(1. 闽台作物有害生物生态防控国家重点实验室, 福建农林大学应用生态研究所, 福州 350002; 2. 教育部害虫生态防控国际合作联合实验室, 福建农林大学, 福州 350002; 3. 农业部闽台作物有害生物综合治理重点实验室, 福建农林大学, 福州 350002; 4. 害虫绿色防控福建省高等学校重点实验室, 福建农林大学, 福州 350002)

**摘要:** 昆虫 dsRNA 降解酶 (dsRNase) 在中肠中特异表达, 降解双链 dsRNA 而影响 RNA 干扰效率, 但其中肠特异表达的机理不清楚。本实验克隆小菜蛾 dsRNase 基因启动子, 明确其启动子活性, 为 dsRNase 中肠特异表达的调控机理研究奠定基础。本实验在小菜蛾基因组的基础上, 克隆小菜蛾 dsRNase 基因上游序列作为候选启动子, 预测该序列潜在的转录因子结合位点; 以候选启动子及其 200 bp 左右为截短长度的系列截短序列, 构建绿色荧光蛋白 EGFP 的表达载体, 转染 S2 细胞, 检测 S2 细胞的 EGFP 荧光量。PCR 克隆得到小菜蛾 dsRNase2 上游 2019 bp 的序列和 dsRNase3 上游 1 260 bp 的序列, 启动子预测发现两段序列都存在 TATA Box 等典型启动子元件和 BR-C, FOX 等组织特异型转录因子结合元件。所获得的两个启动子序列均能启动 EGFP 在 S2 细胞的表达, 且 dsRNase2 启动子的活性显著高于 dsRNase3 启动子; 体外截短启动子活性分析表明, dsRNase2 启动子截短至 1 020 bp 时转录调控活性最高, 1 519 bp 和 1 269 bp 次之, 2 019 bp, 1 769 bp, 780 bp, 515 bp, 267 bp 转录水平与阴性对照无显著性差异。DsRNase3 启动子截短至 866 bp 时转录调控活性最高, 2 019 bp, 1 050 bp, 655 bp, 457 bp, 297 bp 转录水平与阴性对照无显著性差异。进一步序列分析, TryR, STAT 等转录因子结合元件在 dsRNase2 和 dsRNase3 长启动子上游被预测, 可能导致其活性降低。在小菜蛾上成功克隆 dsRNase2 和 dsRNase3 的启动子序列, 体外验证了其转录调控活性并分别筛选出具有最高转录调控活性的启动子区域, 并发现可能的负调控元件, 为下一步启动子活性虫体验证以及应用奠定基础。

**关键词:** 小菜蛾, 双链 dsRNA 降解酶, 细胞转染

\*基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31772237)

\*\*通讯作者, E-mail: yxg@fafu.edu.cn

# 家蚕 FK506 结合蛋白的表达及纯化

李浩岑 林联云 尉迟之光\*

(天津大学药物科学与技术学院, 天津 300072)

**摘要:** FK506 结合蛋白 (FKBP), 是一个具有脯氨酰异构酶活性的蛋白质家族, 在功能上与亲环蛋白相关, 但在氨基酸序列上不相关。FKBP 和亲环蛋白一样, 都属于免疫亲和蛋白家族。其中, 骨骼肌亚型表达 12-kDa FKBP(FKBP12)蛋白, 心肌细胞表达 12.6-kDa (FKBP12.6)蛋白。FKBP 与鱼尼丁受体 (RyR) 紧密结合, 对 RyR 的调控以及钙离子的释放起到重要作用。RyR 是位于内质网上的细胞内钙离子释放通道, 在肌肉收缩中起重要作用。RyR 是重要的杀虫剂靶标, 世界销量第一的双酰胺类杀虫剂正是通过激活 RyR 达到杀虫效果。单通道工作表明, 缺乏 FKBP 将导致 RyR 对  $Ca^{2+}$  更高的敏感性, 更长的平均开放时间以及亚电导状态。在人体内, 缺乏 FKBP12 或 FKBP12.6 已被证明会导致心脏功能异常和心脏病。因此, 通过调节 FKBP 功能间接影响 RyR 功能有望成为新一代杀虫剂的开发策略。本研究克隆了家蚕的 FKBP 基因, 并通过融合标签增加其可溶性和稳定性。研究通过大肠杆菌系统中实现了蛋白的重组过表达, 并通过亲和层析、离子交换层析和分子筛层析等一系列纯化方法获得了大量高纯度的家蚕 FKBP 蛋白。本研究通过对家蚕 FKBP12 蛋白的表达条件及纯化方法进行系统性的研究优化, 建立了一套较为完善的蛋白表达纯化流程, 获得高质量的家蚕 FKBP 蛋白, 可用于后续的蛋白晶体结构解析及蛋白功能研究。

**关键词:** FKBP, 鱼尼丁受体, 家蚕, 蛋白表达纯化

\*通讯作者, E-mail: yuchi@tju.edu.cn

# 柑桔全爪螨平行转移基因鉴定及 RNAi 靶标潜力评价

杨婉君<sup>1,2</sup> 孙勤哲<sup>1,2</sup> 柴文杰<sup>1,2</sup> 王自国<sup>1,2</sup> 牛金志<sup>1,2</sup> 王进军<sup>1,2\*</sup>

(1. 西南大学植物保护学院, 昆虫学及害虫控制工程重庆市重点实验室, 重庆 400715;

(2. 西南大学农业科学研究院, 重庆 400715)

**摘要:** 螨类在进化中能够从微生物中平行转移获得有益的基因 (Horizontal Gene Transfer, HGT) 以提高自身对环境的适应性。通过柑桔全爪螨的基因组和转录组数据挖掘到多种 HGT 基因, 筛选重要的 HGT 基因并评价其 RNAi 靶标潜力, 以期为田间叶螨的绿色防治提供帮助。基于柑桔全爪螨基因组数据, 与古细菌、细菌、真菌、病毒及后生动物的基因组进行蛋白比对, 结合系统发育分析鉴定柑桔全爪螨中的 HGT 基因; 进一步分析 HGT 基因在柑桔全爪螨寄主转换、不同发育时期和药剂处理转录组中的表达量; 通过饲喂法干扰 HGT 基因, 观察对柑桔全爪螨的影响 (害螨死亡率、生殖率、取食危害、dsRNA 的天敌安全性评估等)。通过全基因组鉴定到柑桔全爪螨中有 77 个 HGT 基因, 多数来源于细菌和真菌, 功能涉及糖类等多种营养物质的代谢, 另有 6 个病毒来源的基因; 有效沉默其中 6 个 HGT 基因后, 柑桔全爪螨在 72 h 内出现了显著死亡; 尤其干扰 *Pc2491* 后, 发现柑桔全爪螨在 24 h 对叶片的取食危害面积显著下降 73%, 且 3 天内死亡率达到 77%; 对天敌巴氏新小绥螨饲喂 dsPc2491 后, 其各项生理指标均未受到影响。柑桔全爪螨中存在大量的 HGT 基因, 且部分 HGT 基因参与了多种重要的生理活动, 具有良好的 RNAi 靶标潜力, 对开发防治田间害螨的 dsRNA 制剂具有重要意义。

**关键词:** 平行转移基因, 微生物, 基因鉴定, RNA 干扰, 害虫防治

\*通讯作者

# 日本弓背蚁交哺液中内源性物质的溯源分析

许雯婧<sup>1,2</sup> 王晓蕾<sup>1</sup> 赵孟钦<sup>1</sup> Billen Johan<sup>3</sup> 张国捷<sup>2,4</sup> 贺虹<sup>1</sup>

(1. 西北农林科技大学林学院, 杨陵 712100; 2. 哥本哈根大学生物系, 哥本哈根 2100; 3. 鲁汶大学动物学系, 鲁汶 3000; 4. 中国科学院昆明动物研究所, 昆明 650223)

**摘要:** 交哺是社会性昆虫生活中的重要社会行为, 通过该行为液体食物得以在不同个体间传播。在此过程中, 供给双方还会交换许多不同的物质, 例如信息素。咽前腺和咽腺组成了日本弓背蚁头部最大的外分泌复合体, 可以将分泌物直接排放到交哺液中。本研究旨在探索咽前腺和咽后腺的形态、超微结构及其在交哺过程中可能起到的作用。(1) 利用扫描、透射电镜及半薄连续切片技术观察两腺体的形态与超微结构特征。(2) 通过转录组和代谢组技术, 分析咽前腺分泌物在交哺过程中的功能。(3) 通过代谢组技术测定咽腺分泌物组成并分析咽腺功能。(1) 日本弓背蚁咽前腺中分泌单元的数量远高于其他蚂蚁物种, 具有其他物种中未见报道的复杂导管系统。(2) 手套状的咽腺在指形管数量上显示出明显的品级间差异。(3) 咽前腺和咽腺的超微结构均显示出丰富的线粒体和分泌液泡。咽前腺内布满粗面内质网, 这意味着该腺体的主要分泌物是蛋白质类物质, 决定了对该腺体进行功能分析的技术为转录组结合代谢组测序; 而咽腺内则以光滑内质网为主, 意味着其主要分泌物可能是脂质, 故使用代谢组检测方法分析咽腺功能。(4) 使用 RNA 测序和质谱数据的分析确定了咽前腺中与交哺液相关的 1502 基因和两种化合物 (ethylacetate 和二十六烷)。(5) 在咽腺中, 发现了交哺液中也存在的 11 种直链烃。通过对这些转录组和代谢组数据的功能注释及分析, 可以推断出咽前腺向交哺液中释放的物质可在免疫系统、幼虫未来品级决定和生长发育以及个体识别等过程中发挥作用, 咽腺分泌物则多为充当识别信息素作用的直链碳氢化合物。

**关键词:** 咽前腺, 咽腺, 转录组, 代谢组, 组织学, 超微结构

# 滞育及不同虫态下平腹小蜂内参基因的筛选\*

刘子欣<sup>1\*\*</sup> 赵 灿<sup>1\*\*\*</sup> 李敦松<sup>2\*\*\*</sup>

(1. 广东省农业科学院植物保护研究所/广东省植物保护新技术重点实验室, 广州 510640;

2. 华南农业大学植物保护学院, 广州 510642)

**摘要:** 为筛选出日本平腹小蜂 (*Anastatus japonicas* Ashmead) 滞育状态下稳定表达的内参基因, 使该虫抗逆基因的定量表达分析标准化。本研究根据平腹小蜂滞育及非滞育老熟幼虫转录组注释结果, 利用实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 技术分析了 8 个分别编码 EF1- $\alpha$ 、TBP、TUB、GADPH、RPS6、RPS3a、RPL13、 $\beta$ -actin 的候选内参基因在不同虫态和滞育不同天数下 mRNA 的表达水平, 并利用  $\Delta$ Ct 法、geNorm、NormFinder、BestKeeper 和 RefFinder 软件综合评价 8 个内参基因的稳定性。结果表明: 在平腹小蜂不同虫态下, geNorm、NormFinder 和 BestKeeper 分析表明 RPS6 和 RPL13 为表达最稳定的基因。对于滞育 25 天、35 天、45 天和 55 天的平腹小蜂, geNorm 和 NormFinder 分析结果均显示  $\beta$ -actin 和 TBP 为表达最稳定的基因, 而 BestKeeper 表明 RPL13 和 EF1- $\alpha$  表达最稳定。全样品条件下, geNorm 分析表明 RPS3a 和 RPL13 为表达最稳定基因, BestKeeper 分析表明  $\beta$ -actin 和 RPL13 为表达最稳定基因, NormFinder 分析表明 TUB 和 RPS3a 为表达最稳定基因。利用在线分析软件 RefFinder 综合评价所有结果, 最终确定对于不同虫态下最适合的内参基因为 RPL13 和 RPS6, 滞育情况下最适合的内参为 TBP 和  $\beta$ -actin, 全样品条件下最适合的内参为 RPS3a 和 RPL13。本研究获得了不同条件下, 在平腹小蜂体内稳定表达及最适的内参基因组合, 为平腹小蜂基因功能分析提供了基础。

**关键词:** 日本平腹小蜂, 内参基因, 滞育, 基因表达

\*基金项目: 国家自然科学基金(32001968); 广州市基础与应用基础研究(202102020211); 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系资助(CARS-32-12); 科技创新战略专项资金 (高水平农科院建设) - 青年导师制 (R2018QD-066)

\*\*第一作者, E-mail: 15011925929@163.com

\*\*\*通讯作者, E-mail: zhaocan@gdaas.cn, dsli@gdpri.cn

# 唾液蛋白血红素过氧化物酶促进蚜虫取食的功能研究

杨莉 王自国 牛金志 王进军\*

(西南大学植物保护学院, 西南大学农业科学研究院, 重庆 400716)

**摘要:** 蚜虫是重要的农业经济害虫, 除刺吸植物汁液造成直接危害, 还能传播大量的植物病毒, 对农业发展造成巨大损失。蚜虫在取食过程中会分泌胶状唾液和水状唾液, 其成分复杂, 并含有多种蛋白质, 在蚜虫与寄主互动过程中发挥着至关重要的作用。因此, 研究蚜虫唾液蛋白对了解蚜虫取食过程的调控机制及蚜虫绿色防控具有重要作用。在蚜虫取食转录组中, 发现大量的血红素过氧化物酶基因 (Heme peroxidase, HPX) 表达上调, 并在多个蚜虫的唾液蛋白组中发现该类蛋白, 推测其可能在蚜虫与寄主互动过程中发挥重要作用。基于蚜虫基因组及系统发育分析发现一支特异的HPX家族分支, 将其命名为HPXS亚家族 (Heme peroxidase specific subfamily), HPXS亚家族多为疑似唾液蛋白。通过饲喂法干扰HPXS亚家族基因, 沉默效率在40%–50%, 在烟草上诱导了20%–40%桃蚜死亡率, 在人工饲料上持续饲喂dsRNA, 未出现显著性致死现象。免疫荧光结果显示, HPXS1、HPXS2、HPXS3及HPXS4蛋白均分布于桃蚜主唾液腺。在蚜虫取食后的烟草中成功检测到HPXS1、HPXS2及HPXS3蛋白, 未检测到HPXS4蛋白, 说明HPXS1、HPXS2及HPXS3蛋白能被蚜虫分泌至寄主植物中。在烟草中瞬时表达HPXS3蛋白, 可促进桃蚜定殖, 而瞬时表达HPXS4蛋白, 对桃蚜无显著性影响。随后, 干扰HPXS3或HPXS4后利用EPG检测桃蚜取食情况, 结果显示桃蚜第一次到达韧皮部的时间增加且韧皮部取食时间减少。干扰HPXS亚家族基因后利用染色法检测植物中的ROS含量, 结果表明, 干扰HPXS1、HPXS2及HPXS3后的桃蚜取食烟草, 烟草中的ROS含量增加, 而干扰HPXS4, 烟草中的ROS含量并无显著性变化。以上结果表明, HPXS1、HPXS2及HPXS3蛋白在蚜虫取食过程中被分泌至植物体内, 通过降低植物ROS含量促进蚜虫定殖。

**关键词:** 蚜虫, 寄主, ROS, 唾液蛋白

\*通讯作者, E-mail: wangjinjun@swu.edu.cn

# 蟑螂钠离子通道 $\beta$ 亚基的表达与纯化

何昭 尉迟之光\*

(天津大学药物科学与技术学院, 天津 300072)

**摘要:** 电压门控钠离子通道( $\text{Na}_v$ )主要由一个功能性  $\alpha$  亚基和一个或多个辅助性  $\beta$  亚基组成。该通道控制钠离子穿过质膜, 对于可兴奋细胞中电信号的产生和传播发挥关键作用。钠离子通道  $\alpha$  亚基是许多化合物的分子靶标, 例如临床用于治疗癫痫、慢性疼痛和心律失常的药物, 以及各种动物和植物神经毒素。昆虫钠离子通道也是拟除虫菊酯、吡啶啉类杀虫剂的靶标, 然而由于昆虫与哺乳动物钠离子通道  $\alpha$  亚基的高度同源性, 这些杀虫剂对哺乳动物钠离子通道的功能也有影响。相反, 昆虫和哺乳动物的钠离子通道辅助亚基在序列和结构上则相差较大。 $\beta$  亚基作为辅助性亚基在调节通道的表达和门控中起着重要作用, 研究发现其基因突变与多种疾病也有关, 同时也是多个动物毒素的靶标。因此, 明确昆虫钠离子通道  $\beta$  亚基的结构和功能, 从而研发出针对  $\beta$  亚基的特异性杀虫剂意义重大。

目前在昆虫中发现了五种钠离子通道  $\beta$  亚基。在果蝇(*Drosophila melanogaster*)和其它昆虫中发现的 TipE 蛋白是第一个被发现的昆虫钠离子通道的辅助  $\beta$  亚基。后续在果蝇中发现了四个 TipE 同源基因(TEH1-4), 在其它昆虫中分别有 3 到 4 种不同的 TEH。与单次穿膜的哺乳动物钠离子通道  $\beta$  亚基不同, 昆虫  $\beta$  亚基是二次穿膜的膜蛋白, 其胞外域富含多个半胱氨酸。本研究针对蟑螂(*Periplaneta americana*)TipE 的胞外域结构展开生化和结构研究。采用 shuffle 菌株重组表达富含二硫键的 MBP-TipE 融合蛋白, 通过亲和层析、离子交换层析、分子筛层析获得纯化蛋白, 纯度达 90% 以上, 水溶性达到 10 mg/mL 以上, 可用于蛋白晶体筛选。为昆虫钠离子通道辅助亚基相关的进一步结构和功能研究提供了重要基础。

**关键词:** 钠离子通道, 辅助  $\beta$  亚基, 蟑螂, 蛋白表达纯化

\*通讯作者, E-mail: yuchi@tju.edu.cn

# 桔小实蝇 clip 丝氨酸蛋白酶鉴定及功能探究\*

李伟 豆威 王进军\*\*

(西南大学植物保护学院, 西南大学农业科学研究院, 重庆 400716)

**摘要:** 桔小实蝇 *Bactrocera dorsalis* 是一种具有重要经济意义的入侵性果蔬害虫, 幼虫在果实内部潜食危害, 导致果实腐烂。长期暴露于腐烂环境致使桔小实蝇对微生物具有较强的抵抗力。Clip 丝氨酸蛋白酶 (clip serine proteases, cSPs) 是一类节肢动物特有的丝氨酸蛋白酶, 在激活昆虫 Toll 通路和黑化反应中发挥着重要作用。探究 cSPs 在桔小实蝇免疫应答过程中发挥的功能, 有利于了解桔小实蝇对腐烂环境的适应机制, 为“以菌治虫”提供理论基础。综合运用生物信息学分析、表达模式解析、异源表达和 RNA 干扰等方法 and 手段开展研究。在桔小实蝇基因组中鉴定获得 33 个 cSP 基因, 大部分 cSPs 在脂肪体中高表达; 在微生物胁迫下, *BdcSP8*、*BdcSP7*、*BdcSP10*、*BdcSP13*、*BdcSP181* 等基因的表达量显著上调。系统发育分析表明, *BdcSP8*、*BdcSP10* 与烟草天蛾黑化通路中的 *prophenoloxidase-activating-protein2* (PAP2) 同源, *BdcSP7*、*BdcSP13* 与黑腹果蝇 Toll 通路的 *Grass* 同源。进一步研究发现, *BdcSP10* 重组蛋白可以直接切割酚原氧化酶 PPO2, 通过注射 dsRNA 对 *BdcSP10* 有效沉默后, 桔小实蝇对粪肠球菌和球孢白僵菌的敏感性增加。在病原物侵染下, *BdcSP10* 表达量升高, 并通过直接切割酚氧化酶 PPO 激活桔小实蝇的黑化反应。

**关键词:** clip 丝氨酸蛋白酶, 酚氧化酶, 黑化反应, 昆虫免疫

\*基金项目: 国家自然科学基金 (31872031 和 32072422); 财政部和农业农村部国家现代农业产业技术体系资助

\*\*通讯作者, E-mail: wangjinjun@swu.edu.cn

# 中国白纹伊蚊种群遗传结构模式和感染 DENV-2 媒介能力研究\*

魏勇 郑学礼\*\*

(南方医科大学公共卫生学院病原生物学系, 广州 510515)

**摘要:** 利用一组多态性的微卫星标记对中国 34 个种群的白纹伊蚊基因组 DNA 进行 PCR 扩增测序和种群遗传结构分析。基于酶切简化基因组 DNA 测序的方法对中国不同聚类群的 8 个白纹伊蚊种群进行高通量测序鉴定全基因组 SNP 位点, 分别利用全基因组 SNP、*cox1* 和微卫星这三个 DNA 分子标记对这些种群进行种群遗传分析, 并比较其所呈现的空间遗传结构。中国不同聚类群的 8 个白纹伊蚊种群通过喂食含 DENV-2 的新鲜羊血, 于感染后 14 天解剖蚊虫的头、唾液腺和中肠, 通过 RT-qPCR 检测这些组织感染情况和病毒量, 以及蚊虫体内免疫相关基因的表达水平和 *Wolbachia* 含量。中国 34 个白纹伊蚊种群 977 只蚊虫样本在 13 个微卫星位点上共鉴定出 153 个不同的等位基因。遗传指标如多态信息含量、杂合度、等位基因丰富度和固定指数显示出高度多态性标记、高遗传多样性和低种群遗传分化。基于贝叶斯分析将这 34 个种群分为南部、西部、中部、东部和北部五个不同的聚类群。遗传结构分析表明中国白纹伊蚊种群具有区域聚集性。Mantel 检验表明白纹伊蚊种群遗传距离与地理距离呈正相关 ( $R^2 = 0.245$ ,  $P = 0.01$ )。中国不同聚类群的 8 个白纹伊蚊种群 105 只蚊虫样本共检测 9968 个全基因组 SNP 位点, 231 只蚊虫样本共检测 32 个 *cox1* 单倍体型。基于全基因组 SNP 数据发现五个白纹伊蚊聚类群之间存在不对称的基因流, 且从南向北、从西向东的基因流高于相反方向。与 *cox1* 序列和微卫星标记相比, 全基因组 SNP 对种群遗传结构的分析精确度更高。此外, 中国不同聚类群的 8 个白纹伊蚊种群感染 DENV-2 14 天后各种群间感染率、播散率和潜在传播率没有显著差异。中国西南部地区的白纹伊蚊中肠、头部和唾液腺中 DENV-2 的含量略低于东-中-北部地区。白纹伊蚊体内的 DENV-2 载量与 Rel1 基因 ( $r = -0.285$ ,  $P = 0.011$ ) 和 STAT 基因 ( $r = -0.289$ ,  $P = 0.009$ ) 的表达水平呈负相关。蚊虫体内 *wAlbB* 型沃尔巴克氏菌的相对密度明显高于 *wAlbA* 型沃尔巴克氏菌, 且 *wAlbB* 型沃尔巴克氏菌与蚊头部 ( $r = -0.736$ ,  $P = 0.037$ )、唾液腺 ( $r = -0.728$ ,  $P = 0.041$ ) 和整只蚊虫体内 ( $r = -0.873$ ,  $P = 0.005$ ) 的 DENV-2 载量呈负相关。

**关键词:** 白纹伊蚊, DNA 分子标记, 种群遗传, 2 型登革病毒, 媒介能力

\*基金项目: 国家自然科学基金项目 (31630011); 广州市科技计划项目 (201804020084)

\*\*通讯作者, E-mail: zhengxueli2001@126.com

# 基于线粒体 COI 基因分析广州市 15 个白纹伊蚊种群的遗传多样性\*

郑梓豪<sup>1</sup> 吴珊珊<sup>1</sup> 魏勇<sup>1</sup> 钟代斌<sup>2</sup> 郑学礼<sup>1\*\*</sup>

(1. 南方医科大学公共卫生学院病原生物学系, 广州 510515; 2. 美国加州大学尔湾分校公共卫生学院)

**摘要:** 探讨广州市白纹伊蚊不同地理种群的遗传多样性、遗传分化和系统发育关系。本实验于 2020 年 9 月至 2020 年 11 月期间, 采集广州市 11 个行政区的共计 15 个白纹伊蚊种群。单只蚊虫提取基因组 DNA, 通过 PCR 法扩增 COI 基因序列并测序, 获得的序列在 GenBANK 上经过 BLAST 比对。BioEdit 7.2 软件观察序列峰图。MEGA X 软件对齐序列, 分析碱基组成, 构建系统发育树 (NJ 法)。DNAsp 6.12 软件分析位点多态性, 单倍型及其多样性, 进行错配分布分析。Arlequin 3.5 软件进行分子变异分析、进行中性检验。DAMBE 7.2 软件分析序列的系统发育信号。PopART 1.7 软件构建单倍型网络图 (Median joining 法)。广州市 15 个白纹伊蚊种群共获得 642 条序列, 其长度为 603 bp。A 碱基加 T 碱基平均含量是 67.5%, 符合线粒体 DNA 的 AT 偏向性。单倍型分析共检出 45 种单倍型, 其中单倍型 1 为优势单倍型。中性检验表明广州市部分种群不符合中性理论, 但大部分种群都经历过种群扩张, 而错配分布却表明仅有少部分种群经历过种群扩张。Mantel 检验表明 15 个白纹伊蚊种群不存在地理隔离现象。种群遗传分化显示各种群间交流较频繁, 且种群间的遗传分化很低, 差异更多来自于个体间。广州市的白纹伊蚊种群间遗传多样性偏低, 遗传分化小, 基因交流较频繁。COI 基因是研究白纹伊蚊种群遗传多样性和遗传分化的理想研究对象。

**关键词:** 白纹伊蚊, 线粒体细胞色素 c 氧化酶亚基 I, 种群遗传结构

\*基金项目: 国家自然科学基金项目 (31630011); 广州市科技计划项目 (201804020084)

\*\*通讯作者, E-mail: zhengxueli2001@126.com

# 基于纳米载体的体壁渗透法探索南京麩蛾丝素基因的功能

李霞 刘润东 郭建军 金道超 乙天慈\*

(贵州大学昆虫研究所, 贵州省山区农业有害生物防治重点实验室, 贵阳 550025)

**摘要:** 南京麩蛾 (*Stigmaeopsis nanjingensis*) 具有亚社会性, 能够吐丝筑巢并在其中聚集生活。本实验选择了基于纳米载体的递送系统, 通过体壁渗透 dsRNA 最终干扰南京麩蛾丝素基因 (*Fibroin, Fib*) 的表达, 初步探究其丝素基因的功能。首先采用转录组测序技术获得南京麩蛾转录本序列信息, 通过克隆获得其丝素基因的序列信息并分析其结构和功能; 然后采用基于纳米载体的体壁渗透法干扰雌成蛾丝素基因的表达, 并观察干扰后南京麩蛾的丝以及网巢形态结构的变化, 进而影响南京麩蛾的吐丝筑巢行为。丝素基因的 ORF 长度为 2 496 bp, 编码 831 个氨基酸组成的多肽。通过同源性比较, 发现丝素蛋白在许多谱系中独立进化, 这些不同形式的丝素蛋白彼此之间缺乏同源性, 这可能是由于节肢动物的丝蛋白基因保守性不强, 或者是蛾类的丝素蛋白具有独特的特异性。但是, 它也具有一些类似于其他节肢动物丝素蛋白的独特特征, 如二级结构均是由交替的无规则结构、 $\alpha$ -螺旋和  $\beta$ -链折叠组成的重复基序, 氨基酸组成中, 丝氨酸、甘氨酸和丙氨酸所占比例最高 (50% 以上)。分别将 dsGFP、纳米载体以及纳米载体/dsFib 复合物分别滴在南京麩蛾体壁上, 24 小时后南京麩蛾存活率均在 95% 以上, 说明纳米载体对南京麩蛾没有毒性。q-PCR 检测丝素基因的 RNAi 效应, 结果表明丝素基因表达量下调了 75.4%, dsGFP 与纳米载体两组对照组没有显著差异。扫描电镜下观察丝及网巢的表型变化, 结果显示 dsGFP 与纳米材料两组对照组的丝光滑严密, 充实度好, 网巢规整; 而经过体壁渗透 dsFib 处理的南京麩蛾所织的丝粗细不一, 但总体单根丝的直径相比对照组变细, 偶有分叉, 网巢缝隙变大且丝的层数变少, 网巢整体形态结构相比对照组显得杂乱。以上结果表明体壁渗透丝素基因的南京麩蛾丝形态结构在经干扰处理后受到了一定程度的损坏。

**关键词:** 南京麩蛾, 丝素基因, 纳米载体, RNA 干扰

\*通讯作者, E-mail: yitianci@msn.com

# 桃蚜糖基水解酶家族 1 *Myr* 与 *Lph* 的鉴定及功能研究

彭媛媛 牛金志 蒋红波 王进军\*

(西南大学植物保护学院, 西南大学农业科学研究院, 重庆 400716)

**摘要:** 蚜虫隶属于半翅目 (Hemiptera), 以刺吸式口器直接吸取植物汁液, 还可传播植物病毒, 是植物保护的重要防控对象。糖基水解酶家族 1 (Glycosyl hydrolase family 1, GH1) 是一类重要的  $\beta$ -葡萄糖苷水解酶, 糖代谢是蚜虫与植物互动的重要组成部分。因此, 研究蚜虫糖基水解酶家族 1 对了解蚜虫寄主适应性及蚜虫绿色防控具有重要作用。基于基因组、转录组以及 NCBI 数据库, 我们在桃蚜、豌豆蚜、褐色桔蚜基因组中分别鉴定到 5、9 和 12 个 GH1 基因。其中桃蚜 CH1 家族含有 2 个芥子酶基因 (*Myrosinase*, *Myr*) 和 3 个乳糖酶-根皮苷水解酶基因 (*Lactase phloridin hydrolase*, *Lph*)。利用 RT-qPCR 技术解析桃蚜 *Myr* 与 *Lph* 的组织表达模式, 结果表明 *Myr1* 在肌肉组织特异性高表达; *Myr2* 在肠道高表达, 在肌肉组织次之; *Lph1* 和 *Lph3* 均在肠道和脂肪体高表达。免疫荧光结果显示, *Myr1* 蛋白分布在肌肉, *Lph3* 蛋白分布在肠道。桃蚜 *Myr* 与 *Lph* 均能被  $\beta$ -葡萄糖苷酶的常见底物 4-硝基苯基- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷诱导上调, 暗示它们可能均具有  $\beta$ -葡萄糖苷酶活性; *Myr1* 在烯丙基硫代葡萄糖苷诱导下显著上调, 暗示其可能具有芥子酶功能; 而 *Myr2* 在烯丙基硫代葡萄糖苷诱导下无显著变化, 说明其可能不具有芥子酶的功能; *Lph1* 和 *Lph3* 能被槲皮苷以及乳糖诱导上调, 暗示其具有乳糖酶-根皮苷水解酶活性。通过饲喂法干扰桃蚜 GH1 家族基因, *Myr1*、*Myr2* 和 *Lph1*、*Lph3* 沉默效率为 43.7%、53%、50% 和 37%。抑制 *Myr1* 与 *Myr2* 的表达后, 桃蚜体内  $\beta$ -葡萄糖苷酶活性降低, 葡萄糖总含量显著降低, 桃蚜生长发育受阻, 体型变小, 表明 *Myr* 在桃蚜体内具有  $\beta$ -葡萄糖苷酶的活性, 可能参与了蚜虫生长发育中葡萄糖的供给。抑制 *Lph1* 和 *Lph3* 的表达后, 桃蚜体内乳糖酶-根皮苷水解酶活性降低, 取食行为消极、生长发育受阻、体型变小、生殖率下降、死亡率增加, 表明 *Lph1* 和 *Lph3* 在体内是具有活性的 *Lph*, 并且可能参与桃蚜对食物中黄酮类的代谢。以上结果表明, 桃蚜 *Myr* 与 *Lph* 除发挥  $\beta$ -葡萄糖苷酶基础作用外, 还能代谢植物次生代谢物硫代葡萄糖苷、黄酮类等以促进蚜虫生长发育。

**关键词:** 蚜虫, *Myr*, *Lph*, 生长发育

\*通讯作者

# 小菜蛾眼色素合成通路基因 *kmo* 和 *cardinal* 的鉴定与功能验证

徐雪娇<sup>1,2,\*</sup> 杨婕<sup>1,2</sup> Tim Harvey-Samuel<sup>3</sup> 尤民生<sup>1,2,\*\*</sup> Luke Alphey<sup>2,3,\*\*</sup>

(1. 应用生态研究所, 福建农林大学, 福州 350002; 2. 害虫生态防控国际合作联合实验室, 福建农林大学, 福州 350002; 3. 英国佩布赖特研究所, 英国沃金)

**摘要:** 害虫种群遗传控制技术是一类新型环保的害虫防治策略, 在一些疾病媒介昆虫中已构建了多个种群控制模型, 但在鳞翅目农业害虫中还未见报道。昆虫眼色决定通路上的关键基因常作为内源标记基因, 用于测试这些种群控制模型的作用效率。本课题在世界性农业害虫小菜蛾 *Plutella xylostella* 中鉴定了两个控制眼色的基因犬尿氨酸-3-羟化酶 (*kynurenine-3-hydroxylase*, *kmo*) 和 *cardinal* 的直系同源基因。利用 CRISPR/Cas9 基因编辑系统分别构建了这两个基因的 G0 代嵌合突变体, 并通过杂交筛选最终获得了多个具有不同突变类型的纯合品系。小菜蛾野生型成虫具有黑色复眼, 相比之下, *Pxkmo* 的移码突变造成了异常的黄眼表型, 缺失两个氨基酸的框内突变则造成了红眼亚型表型。由移码突变所造成的 *Pxcardinal* 的功能缺失虽然导致了成虫的黄眼突变, 但随着时间的推移, 成虫的眼色又会逐渐转变为红色。把突变品系与野生型杂交后, 后代均表现出了野生型眼色, 表明 *Pxkmo* 和 *Pxcardinal* 均为常染色体隐性基因。此外, *Pxkmo* 和 *Pxcardinal* 黄眼突变品系的幼虫单眼、脑部、睾丸以及蛹期复眼的颜色也比野生型的着色更浅。以上结果表明, *Pxkmo* 和 *Pxcardinal* 在小菜蛾眼色素沉着过程中起着重要的作用, 且 *Pxkmo* 的不同基因突变的类型可能影响最终表型。本课题通过验证这两个眼色相关表型基因的功能, 为进一步开发遗传控制系统用于小菜蛾的种群防控提供了重要的研究工具。

**关键词:** 小菜蛾, CRISPR/Cas9, 眼色素沉着, 标记基因, 种群控制

\*第一作者, E-mail: xj\_xu@outlook.com

\*\*通讯作者, E-mail: msyou@fafu.edu.cn; luke.alphey@pirbright.ac.uk

# 抗菌肽介导 *Nardonella* 共生菌细胞膜界面物质运输机制的研究\*

郭丽萍<sup>1,2\*\*</sup> 黄颖<sup>1,2</sup> 侯有明<sup>1,2\*\*\*</sup>

(1. 闽台作物害虫生态防治国家重点实验室; 2. 福建农林大学福建省昆虫生态重点实验室, 福州 350002)

**摘要:** 研究红棕象甲含菌胞中特异表达的抗菌肽, 介导共生菌和宿主之间进行物质交换的作用机理。以 Illumina Novaseq 6000 高通量测序平台为基础, 以红棕象甲 *Rynchophorus ferrugineus-Nardonella* 为模型, 将红棕象甲含菌组织的基因进行转录组测序、组装序列, 并对红棕象甲含菌组织的相关抗菌肽基因进行验证。在红棕象甲含菌组织转录组中鉴定了 *denfensin* 家族 (*denfensin1*、*denfensin2*、*denfensin3*), *Cecropin* 家族 (*Cecropin1*、*Cecropin2*) 及 *attacin-B* 家族 (*attacin-B1*) 共 6 个基因呈显著上调, 经 qRT-PCR 验证, 只有 *Cecropin* 家族 (*Cecropin1*、*Cecropin2*) 基因表达趋势与转录组测序结果一致, 在含菌组织中显著上调。*Cecropin* 家族 (*Cecropin1*、*Cecropin2*) 基因在含菌组织中的显著上调, 表明其可能在共生菌和宿主间的物质交换中发挥重要作用。通过验证这两个基因的功能, 有助于了解昆虫-内共生菌物质交换的细胞和分子机理, 对于揭示象甲科昆虫的环境适应性和入侵性也有着重要意义, 实践上可为害虫防控技术的开发提供新思路。

**关键词:** 红棕象甲-*Nardonella*; 内共生菌; 抗菌肽; 物质运输

\*基金项目: 国家自然科学基金项目(U1705232, 31872033)

\*\*第一作者, E-mail: lpguo@fafu.edu.cn

\*\*\*通讯作者, E-mail: ymhou@fafu.edu.cn.

# 红棕象甲识别聚集信息素的外周嗅觉分子机制\*

纪田亮<sup>1,2,3</sup> 胡伟<sup>1,2</sup> 王桂荣<sup>3\*\*</sup> 侯有明<sup>1,2\*\*</sup>

(1. 福建农林大学闽台作物有害生物生态防控国家重点实验室, 福州 350002; 2. 福建农林大学植物保护学院, 福州 350002; 3. 中国农业科学院植物保护研究所, 北京 100193)

**摘要:** 昆虫在长期进化过程中形成了一套高度灵敏地嗅觉系统, 使其能够在自然界成千上万种气味中快速识别和区分并调控自身的一系列行为, 如栖息地和食物源的定位, 识别潜在的交配对象, 产卵位点的选择, 种内信息交流以及感知天敌并逃避被捕食等。红棕象甲 *Rhynchophorus ferrugineus* (Oliver) 是一种对棕榈科产业和生态安全等都具有严重危害的高危险性林业害虫, 其聚集信息成分 4-甲基-5-壬醇(4-Methyl-5-nonanol)和 4-甲基-5-壬酮(4-Methyl-5-nonanone)广泛用于红棕象甲的诱捕和监测。但目前我们对红棕象甲识别其聚集信息素的外周嗅觉分子机制仍然不清楚。我们首先通过行为学实验明确了聚集信息素两种均能够对红棕象甲雌雄虫有吸引作用, 接着利用触角电位 EAG 技术发现其位于触角第 6 鞭亚节(F6)上的感器负责识别信息素两种成分。单感器记录(single sensillum recordings)结果表明第 6 鞭亚节上的 III 型毛型感器对信息素两种成分有电生理反应。通过触角转录组测序从红棕象甲触角中获得 89 个气味受体 ORs (odorant receptors), 利用爪蟾卵母细胞-双电极电压钳系统进行功能表征, 结果表明其中两个位于触角特异性高表达的 *RferOr1* 和 *RferOr33* 均能够识别信息素的两种成分。我们的研究结果初步阐明了红棕象甲可能是利用位于触角第 6 鞭亚节上的 III 型毛型感器中的神经编码的两个气味受体进行信息素的外周嗅觉分子识别。为以后根据靶标分子进行新型活性化合物或创新行为干扰剂的筛选奠定了理论基础。

**关键词:** 聚集信息素, 气味受体, 嗅觉分子识别, 4-甲基-5-壬醇, 4-甲基-5-壬酮

\*基金项目: 国家自然科学基金项目(U1705232, 31872033)

\*\*通讯作者, E-mail: wangguirong@caas.cn; ymhou@fafu.edu.cn

# 中华蜜蜂 *malvolio* 基因定位与表达特性揭示其在蜜蜂分工中的潜在作用\*

马卫华\*\* 孟娇 赵慧婷 宋怀磊 武文卿 申晋山 姜玉锁\*\*\*

(山西农业大学, 太原 030031)

**摘要:** *malvolio* (*mvl*)基因在西方蜜蜂(*Apis mellifera*, *Am*)由哺育蜂转为采集蜂的过程中发挥了重要的作用。作为东方蜜蜂亚种的传粉蜂, 中华蜜蜂 (*Apis cerana cerana*, *Ac*) 虽然与西方蜜蜂在很多方面具有共同的特性, 但尚不清楚 *Ac mvl* 是否与 *Am mvl* 一样在蜜蜂采集行为中行使着同样的功能。本研究旨在通过分析 *Ac mvl* 在中华蜜蜂中的表达特性探讨 *Ac mvl* 在中华蜜蜂劳动分工中发挥的作用。对哺育蜂转为采集蜂的中华蜜蜂进行 *Ac mvl* 基因的表达分析, 并对不同组织中的 *Ac mvl* 蛋白进行定量分析, 对采集蜂大脑进行 *Ac mvl* 基因的原位表达分析。*Ac mvl* 基因在前期的表达较低, 但是在分工时表达量较高。*Ac mvl* 基因在中华蜜蜂大脑蘑菇体、视叶和嗅叶中有选择性地表达。本研究揭示了 *Ac mvl* 在中华蜜蜂由哺育蜂向采集蜂转变时起到了一定的作用。

**关键词:** 中华蜜蜂, 西方蜜蜂, *malvolio* (*mvl*)基因, 劳动分工

\*基金项目: 国家产业技术体系 (CARS-44-KXJ23)

\*\*第一作者

\*\*\*通讯作者, E-mail: 18636935872@126.com

# 苹果蠹蛾精巢特异性基因的筛选及表达模式分析\*

魏子涵 王雅琪 杨雪清\*\*

(沈阳农业大学植物保护学院, 辽宁省经济与应用昆虫重点实验室, 沈阳 110866)

**摘要:** 苹果蠹蛾 *Cydia pomonella* 是全球重要果树害虫, 也是我国重大外来入侵有害生物。昆虫不育技术 (Sterile insect technique, SIT) 是一种环境友好型的害虫防治技术, 主要通过物理、化学、生物技术对靶标害虫处理使其不育, 进而将其释放至野外与野生雌虫交配产生不育后代, 从而达到降低害虫种群数量的目的。近年来, 加拿大、美国等国家利用基于射线辐照的 SIT 技术成功根除了部分地区的苹果蠹蛾疫情, 而基于生殖相关基因调控的不育技术研究仍处于起步阶段。在本研究中, 我们通过对交配前、后的苹果蠹蛾雄成虫精巢进行转录组测序, 筛选出在精巢中特异性上调 ( $\log_2\text{FoldChange}>4$ ) 表达基因 6 659 条。进一步分析发现, 精巢特异性丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (Testis-Specific Serine/Threonine Kinases, TSSKs) 家族共 5 包括名成员 (*TSSK1*、*TSSK1a*、*TSSK2*、*TSSK2a* 和 *TSSK4*), 它们均在苹果蠹蛾雄成虫精巢中高表达。RT-qPCR 结果表明, TSSKs 家族基因在精巢中表达量最高, 在其它部位几乎不表达。发育阶段表达模式结果显示, 这些基因在幼虫期呈现出随龄期升高表达水平上升的趋势, 在 5 龄幼虫中的表达水平显著高于幼虫的其它龄期; TSSKs 家族基因的表达水平在成虫期达到最高, 且在雄虫 (蛹、成虫) 中显著高于雌虫。在这 5 个基因中, *TSSK4* 的表达量显著高于其它基因, 而 *TSSK1* 和 *TSSK2a* 在交配后成虫精巢中的表达量显著低于交配前, 表明这些基因可能与苹果蠹蛾雄虫生殖相关。本研究结果为后续构建以 TSSKs 家族基因为靶标的 SIT 技术控制苹果蠹蛾提供了新思路。

**关键词:** 苹果蠹蛾, 转录组, 昆虫不育技术, 精巢特异性表达基因

\*基金项目: 兴辽英才计划青年拔尖人才项目 (XLYC1907097), 辽宁省高等学校创新人才支持计划 (LCR2018024)

\*\*通讯作者, E-mail: sling233@hotmail.com

# 基于分子模拟技术提高昆虫嗅觉蛋白质鉴定精度并揭示其配体识别机制\*

李 迁<sup>1\*\*</sup> 张玉丹<sup>1\*\*</sup> 万家辉<sup>1</sup> 黄 原<sup>2</sup> 李 钢<sup>2\*\*\*</sup> 卢慧蕊<sup>1\*\*\*</sup>

(1. 西北工业大学生命学院, 空间生物实验模拟技术国防重点学科实验室, 西安 710072;

2. 陕西师范大学生命科学学院, 西安 710119)

**摘要:** 昆虫的觅食、产卵、个体识别与躲避敌害等行为都离不开对周围环境的感知, 其中嗅觉在这些生物学行为中起到了重要作用, 而嗅觉受体 (Olfactory Receptors, ORs) 是昆虫高度灵敏的嗅觉系统的重要组成部分, 承担着特异性感知气味化合物分子的作用。昆虫嗅觉受体蛋白质的序列鉴定与结构功能分析, 有助于揭示昆虫嗅觉感知系统的分子机理, 阐明昆虫的环境适应机制和进化策略, 也为开展昆虫生理生化研究以及害虫防治与综合利用工作提供重要的理论基础与技术储备。随着测序技术与生物信息学的发展, 通过全基因组测序与注释, 可以获得大量的昆虫嗅觉受体蛋白质序列。然而, 受制于嗅觉受体基因鉴定准确性低和生理生化功能识别困难等问题, 昆虫嗅觉系统的分子识别机制及其环境适应性研究仍极具挑战性。针对上述问题, 本论文的主要研究内容及结果如下:

(1) 提出了基于分子模拟技术校正昆虫嗅觉受体功能注释结果的鉴定策略, 能够有效降低传统鉴定方法中的假阳性率。鉴定了 57 种昆虫的嗅觉受体蛋白序列并模建其三维结构, 建立了更为精准的昆虫嗅觉受体序列与结构数据库。

(2) 建立了有效的昆虫嗅觉受体与气味分子虚拟筛选体系, 其功能预测结果能够有效拟合昆虫气味识别的实验现象, 为建立虚拟筛选体系以及相关功能研究提供了重要的数据支撑。

(3) 完成 3 种代表性昆虫的嗅觉受体与气味分子库的虚拟筛选计算, 从功能视角进一步揭示出果蝇、按蚊与家蚕所拥有嗅觉受体的环境适应性及其基因进化策略。

综上所述, 本论文发现的昆虫嗅觉受体蛋白与环境适应性之间的相关性, 能够为进一步揭示昆虫的气味识别机制与昆虫嗅觉受体功能探索提供新的切入点。此外, 本研究所建立的方法和手段也为针对嗅觉受体靶标的昆虫特异性诱导剂与趋避剂的研发提供重要的理论基础。

**关键词:** 昆虫嗅觉受体, 功能蛋白质鉴定, 气味分子分型, 分子模拟

\*基金项目: 陕西省自然科学基金 (2021JM-053)

\*\*共同第一作者

\*\*\*通讯作者, E-mail: 卢慧蕊 (luhuimeng@nwpu.edu.cn), 李钢 (gli@snnu.edu.cn)

## 丽草蛉滞育不同时期的转录组差异分析\*

王亚南\*\* 刘小平 王孟卿 毛建军 张礼生 李玉艳\*\*\*

(中国农业科学院植物保护研究所, 北京 100193)

**摘要:** 丽草蛉 (*Chrysopa formosa* Brauer) 是一种重要的捕食性天敌昆虫, 能捕食多种农林害虫, 具有广泛的生防优势。丽草蛉以预蛹进行兼性滞育, 利用滞育可调控其发育进度, 有助于延长产品贮存期, 促进其扩繁和应用。本研究比较分析了滞育、滞育解除与正常发育态丽草蛉的转录组信息, 共获得 41 599 条 unigene 序列 (NR 注释序列 24 763 条)。滞育 30d 预蛹相较于正常发育预蛹差异表达基因 3 205 个 (1 613 个上调, 1 592 个下调)。差异基因显著富集到 741 个 GO 条目, 富集最显著的 GO 条目主要是几丁质代谢过程、乙酰辅酶 A 代谢过程、丝氨酸型肽链内切酶活性和细胞外间隙组分。KEGG 富集分析发现, 差异基因在谷胱甘肽代谢、戊糖和葡萄糖醛酸转换、甾类激素生物合成、氨基酸和核苷酸代谢及脂肪代谢等 24 个通路显著富集, 说明丽草蛉滞育期间抗氧化防御、激素合成及碳水化合物、氨基酸和脂肪酸代谢等过程发生显著变化。滞育解除蛹相较于正常发育蛹差异表达基因 419 个 (上调 57 个, 下调 362 个)。差异基因共显著富集到 229 个 GO 条目, 其中涉及脂肪酸代谢、核苷酸代谢的生物过程和酶活性、过氧化物酶体等 GO 条目富集最显著。KEGG 富集分析表明, 差异基因主要在亚油酸和亚麻酸代谢、脂肪消化吸收、甘油磷脂代谢、谷胱甘肽代谢及糖代谢等 21 个通路显著富集, 上述脂质代谢和糖代谢通路涉及的基因表达量均显著下调, 说明丽草蛉在滞育解除后能量代谢和抗逆能力较正常个体有所下降。本研究结果为后续深入研究滞育关联基因的功能及相关代谢通路的作用机制等提供了参考依据, 对解析昆虫滞育的分子调控机制具有重要意义。

**关键词:** 丽草蛉, 滞育, 比较转录组学, 差异表达基因, 代谢通路

\*基金项目: 国家重点研发计划项目 (2019YFD1002103), 国家自然科学基金青年基金 (31601689)

\*\*第一作者, E-mail: 18769476478@163.com

\*\*\*通讯作者, E-mail: liyuyan@caas.cn

# 两步平衡方法冷冻蜜蜂精液的研究

庄明亮 李剑飞 李志勇 葛蓬

(吉林省养蜂科学研究所, 吉林 132108)

**摘要:** 为了减少冷冻保护剂对蜜蜂精液的毒害作用, 提高冷冻保存后蜜蜂精子活率和活力, 试验采用试验组和对照组两种方法冷冻保存蜜蜂精液。试验组采用精液与稀释剂先 4℃ 静置 1 h 再与冷冻保护剂 4℃ 静置 1 h 的平衡方法, 再用程序降温仪从 4℃ 以 3.5℃/min 下降速率下降到-60℃ 的冷冻方法; 对照组采用稀释剂、冷冻保护剂与精液同时混合 4℃ 静置 2 h 的平衡方法和在液氮上方 2-3 cm 处快速降温的冷冻方法, 比较两组保存 1 天、7 天、60 天、180 天和 360 天的精子活率、活力和授精蜂王存活率。结果表明保存 60 天、180 天和 360 天的精子活率、活力和授精蜂王存活率, 试验组均显著高于对照组 ( $P < 0.05$ )。说明试验组的冷冻蜜蜂精液方法可同时满足蜜蜂精子长期冻存和短期冻存的需求, 可以作为解决蜜蜂优良蜂种遗传物质传递的一种方法。

**关键词:** 蜜蜂, 精液, 超低温冷冻

# 光照对昆虫生长发育影响的研究进展\*

纪宇桐 薛传振 王孟卿\*\* 李玉艳 毛建军 张礼生\*\*

(中国农业科学院植物保护研究所, 北京 100193)

**摘要:** 光照是影响昆虫生长发育的一个重要因素, 光照的时间长短、强度以及与其他环境条件的协同作用等对昆虫的各项生命指标有着直接或间接的影响。光照周期对昆虫的滞育、产卵等生物学特性有重要的影响。Macedo 等(2003)探究了光照对草蛉 *Chrysoperla externa* 产卵量的影响, 结果显示在光周期为 8L:16D, 10L:14D, 12L:12D, 14L:10D 和 16L:8D 条件下, 草蛉产卵量与光周期呈反相关。Xue 等(2002)的研究发现, 大猿叶甲 *Colaphellus bowringi* Baly 在长光照(16L:8D)条件下的滞育率接近 100%, 滞育成虫不产卵, 而在短光照时间(12L:12D)的条件下发育产卵。光照强度会显著影响昆虫的生殖力等。张雪等(2019)的研究结果表明不同的光照强度对西花蓟马 *frankliniella occidentalis*(Pergande)孤雌生殖和两性生殖的产卵量均有显著差异。在光照强度为 10000 lx 时, 西花蓟马孤雌生殖的产卵量达到峰值。在光照强度 10000–20000 lx 内西花蓟马两性生殖产卵量逐渐上升。许喆等(2019)对筛豆龟蝽 *Coptosoma cribrayia* Fabricius 的研究发现, 较高的光照强度(10500 lx)更有利于种群数量的增长, 而较低的光照强度( $\leq 2500$  lx)将导致种群逐渐消亡。温度和光照的协同作用对昆虫的滞育、休眠产生显著影响。孟佳、黄建(2021)对小黑瓢虫 *Delphastus catalinae* (Horn)进行研究发现, 在小黑瓢虫的滞育过程中, 温度起决定作用, 短光照起促进作用, 在温度为 11 ℃ 和光周期 8L:16D 对小黑瓢虫滞育诱导效果最明显。王少博等(2020)对美国白蛾 *Hyphantria cunea* 的研究表明, 当光照时间在 13–16 h 之间, 滞育率随温度降低逐渐升高, 且不同温度处理之间的差异显著。王燕等(2014)对半闭弯尾姬蜂 *Diadegma semiclausum* 蛹休眠情况进行研究发现, 低温和短光照是诱导该种天敌昆虫休眠的主要因子。郭建青等(2013)的研究表明温、光协同作用对亚洲玉米螟滞育诱导具有重要影响, 其中光周期在滞育诱导中起主导作用。综上所述, 光照条件对昆虫的生长发育有至关重要的影响, 研究并掌握某种昆虫适宜的光照条件能够有效的对其进行利用或防控, 并为其生态适应性提供更多的数据和理论支撑。

**关键词:** 光照, 昆虫, 生长发育, 协同作用

\*基金项目: 科技部重点研发计划项目(2019YFD0300100), 中国农科院创新工程项目(CAAS-ZDRW202108)

\*\*通讯作者, E-mail: mengqingsw@163.com

# m<sup>6</sup>A 调控小菜蛾生殖力并影响其适应寄主能力

王贝贝<sup>1,2,3\*</sup> 赖颖芳<sup>1,2,3</sup> 焦璐<sup>1,2,3</sup> 乔庆旋<sup>1,2,3</sup> 李珊雨<sup>1,2,3</sup> 何玮毅<sup>1,2,3\*\*</sup>

(1. 福建农林大学闽台作物有害生物生态防控国家重点实验室, 应用生态研究所, 福州 350002; 2. 福建农林大学教育部害虫生态防控国际合作联合实验室, 福州 350002; 3. 福建农林大学农业部闽台作物有害生物综合治理重点实验室, 福州 350002)

**摘要:** m<sup>6</sup>A 真核生物中最保守、最广泛的 RNA 甲基化修饰。然而, m<sup>6</sup>A 在小菜蛾中的生物学作用仍然未知。METTL3 是 m<sup>6</sup>A 甲基转移酶的一种。本实验研究 METTL3 的敲除是否会影响小菜蛾 m<sup>6</sup>A 水平, 以及 m<sup>6</sup>A 水平受到影响后小菜蛾的生理生化过程是否会受到影响。首先研究了小菜蛾 AD 品系的不同发育阶段和组织的 m<sup>6</sup>A 甲基化含量, 利用 CRISPR/Cas9 技术敲除小菜蛾体内 METTL3; 其次, 将长期饲料喂养的小菜蛾幼虫转移至寄主植物萝卜苗, 统计取食萝卜苗的小菜蛾幼虫平均虫重、幼虫发育历期以及平均蛹重; 最后, 记录单对小菜蛾成虫交配 48 h 小时后的产卵量以及孵化率; 均以野生型(WT)作为对照。m<sup>6</sup>A 在小菜蛾各个发育阶段和不同组织间均有表达, 但含量呈现较低水平; 鉴定得到小菜蛾 METTL3 两个可变剪接体, 它们分别编码 575 和 487 个氨基酸, 通过种内连续近交筛选得到纯合品系。小菜蛾 METTL3 基因敲除后, AD 品系 m<sup>6</sup>A 甲基化水平没有显著降低, 转寄主品系 METTL3 缺失突变体的 m<sup>6</sup>A 甲基化水平较野生型降低; 小菜蛾突变体在转移寄主植物取食后, 与 WT 相比, 取食第四天和第五天的幼虫平均虫重显著降低; 与 WT 相比, 突变体单对成虫的产卵量与孵化率也显著降低。由此可知, 甲基转移酶 METTL3 敲除会改变转寄主小菜蛾成虫的 m<sup>6</sup>A 甲基化含量, 也影响幼虫期小菜蛾的寄主适应能力, 对成虫期小菜蛾的产卵量以及孵化率也有影响。将进一步为研究 RNA 甲基化参与小菜蛾适应寄主植物及生殖的功能研究奠定基础。

**关键词:** 小菜蛾, RNA 甲基化, METTL3, 转寄主, 生殖

\*第一作者, E-mail: 1135706085@qq.com

\*\*通讯作者, E-mail: wy.he@fafu.edu.cn

# 三种微小 RNA 在意大利蜜蜂工蜂蛹期发育过程中的表达谱及潜在功能\*

祝智威<sup>1\*\*</sup> 张文德<sup>1</sup> 陈大福<sup>1</sup> 郭睿<sup>1,2\*\*\*</sup>

(1. 福建农林大学动物科学学院蜂学学院, 福州 350002; 2. 福建农林大学蜂疗研究所, 福州 350002)

**摘要:** 意大利蜜蜂 *Apis mellifera ligustica* (意蜂) 是生产性能优良的西方蜜蜂 *Apis mellifera* 亚种, 本研究旨在利用分子生物学手段揭示 3 种微小 RNA (microRNA, miRNA) ame-miR-13b, ame-miR-100 和 ame-miR-bantam 调控蛹期变态发育的分子机理。通过 Stem-loop RT-PCR 验证 ame-miR-13b, ame-miR-100 和 ame-miR-bantam 的真实表达。通过 RT-qPCR 检测 ame-miR-13b, ame-miR-100, ame-miR-bantam 和靶 mRNA 在意大利蜜蜂工蜂蛹期发育过程的表达谱。利用相关生物信息学软件预测 ame-miR-13b, ame-miR-100 和 ame-miR-bantam 的靶 mRNA, 构建和分析 miRNA-mRNA 调控网络以及对靶 mRNA 进行数据库注释。研究结果表明 ame-miR-13b, ame-miR-100 和 ame-miR-bantam 在意大利蜜蜂工蜂蛹期发育过程真实表达且表达量总体均呈动态上升趋势; 上述 3 个 miRNA 可分别靶向 850, 136 和 506 条 mRNA, 它们之间形成较复杂的调控网络; 这些靶标可注释到 32, 24 和 33 个 GO 功能条目, 以及 204, 114 和 171 条 KEGG 通路。ame-miR-13b, ame-miR-100 和 ame-miR-bantam 潜在通过调控蜕皮激素基因、*yellow* 基因以及 Hippo, FoxO, Wnt, Jak-STAT 和 Notch 信号通路相关基因的表达共同影响意大利蜜蜂蛹期的变态发育过程。

**关键词:** 意大利蜜蜂, 蛹期, 变态发育, 微小 RNA, 表达谱, 调控网络

\*基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (CARS-44-KXJ7); 福建农林大学杰出青年科研人才计划项目 (xjq201814); 福建农林大学硕士生导师团队项目 (郭睿); 江西省应用研究培育计划 (20181BBF68003)

\*\*第一作者, E-mail: zzw15235470398@163.com

\*\*\*通讯作者, E-mail: ruiguo@fafu.edu.cn

# GATA 家族转录因子调控昆虫生殖行为的分子机制

张松斗<sup>1,2\*</sup> 李贞<sup>1</sup> 孙建军<sup>2\*\*</sup> 刘小侠<sup>1\*\*</sup>

(1. 中国农业大学植物保护学院昆虫学系, 北京 100193;

2. 康涅狄格大学生理与神经生物学系, 康涅狄格 06269 美国)

**摘要:** 在雌虫生殖系统内, 成熟卵泡从卵巢内的顺利排出和精子在精子储存器官内的储存与释放是生殖成功的两个关键步骤。已有研究报道, 黑腹果蝇 (*Drosophila melanogaster*) 雌虫生殖系统内储精囊和附腺的分泌物能够调控排卵、储精囊内的精子储存, 以及受精卵的孵化, 但是具体的分子作用机制还不清楚。在本研究中, 首先以 *D. melanogaster* 为模型, 鉴定到几个特异性表达于储精囊分泌细胞 (spermathecal secretory cells, SSCs)、附腺分泌细胞 (parovarian secretory cells, PSCs)、或者同时表达于两种细胞的 GAL4 品系。利用这些工具证明了被删除 SSCs 之后的雌虫不能正常的储存精子, 而被删除 PSCs 之后的雌虫不能正常的排卵, 该结果也表明 SSCs 和 PSCs 在雌虫的生殖过程中扮演着不同的角色。另外, 荧光免疫结果表明 2 个 GATA 家族转录因子 Serpent (Srp) 和 Pannier (Pnr) 在 SSCs 和 PSCs 中均大量表达; 基因功能下调和基因挽救实验结果表明 Srp 和 Pnr 在 SSCs 中负责调控精子储存, 在 PSCs 中负责调控排卵; 而且 Srp 在调控精子储存和排卵的过程中均作用于 Pnr 的上游。为了研究 GATA 家族转录因子在昆虫生殖行为中的功能保守性, 接下来选择重要农业害虫棉铃虫 (*Helicoverpa armigera*) 作为模式。结合棉铃虫雌虫生殖系统转录组测序结果和 NCBI 公布的棉铃虫基因组序列, 共鉴定到 5 个 GATA 家族转录因子。时空表达谱结果表明 *HaGATAa* 和 *HaGATAb* 在雌虫生殖系统内的表达量显著地高于其他组织, 并且随着雌虫生殖系统的发育表达量显著地升高。RNA 干扰结果表明 *HaGATAa* 和 *HaGATAb* 表达量的下调显著地抑制雌蛾交配后的产卵量和受精卵的孵化率等生殖行为, 反而延长了交配雌蛾的寿命, 促进了免疫信号相关基因的表达。进一步的双荧光素酶报告实验、miRNA 的激动剂和拮抗剂处理实验结果表明 miRNA-282 正调控 *HaGATAa* 的表达、miRNA-2 负调控 *HaGATAb* 的表达参与雌蛾的生殖行为和免疫功能的平衡关系。相关研究结果不仅深层次地揭示了 GATA 家族转录因子调控雌虫生殖行为的分子机制, 给昆虫生殖生物学领域的研究开创前沿, 还为夜蛾科害虫的绿色防控提供新靶标和新思路。

**关键词:** GATA 家族转录因子, 黑腹果蝇, 棉铃虫, 生殖行为, 免疫功能

\*第一作者, E-mail: sdzhang2013@cau.edu.cn

\*\*通讯作者, E-mail: liuxiaoxia611@cau.edu.cn, jianjun.sun@uconn.edu

# 精液丝氨酸蛋白酶同系物 *PxSPH-1* 在小菜蛾生殖调控中的作用\*

刘莉莉<sup>1,2,3,4\*\*</sup> 邹明民<sup>1,2,3,4</sup> 曹敏慧<sup>1,2,3,4</sup> 董诗杰<sup>1,2,3,4</sup> 黄梦琦<sup>1,2,3,4</sup>  
尤民生<sup>1,2,3,4\*\*\*</sup> 彭露<sup>1,2,3,4\*\*\*</sup>

(1. 福建农林大学, 闽台作物有害生物生态防控国家重点实验室, 福州 350002; 2. 福建农林大学应用生态研究所, 福州 350002; 3. 福建农林大学, 教育部害虫生态防控国际合作联合实验室, 福州 350002;  
4. 福建农林大学, 福建省昆虫生态重点实验室, 福州 350002)

**摘要:** 鉴定小菜蛾精液丝氨酸蛋白酶同系物 *PxSPH-1* 基因, 明确其在小菜蛾不同发育时期与不同组织的表达模式, 并基于 CRISPR/Cas9 技术解析其介导生殖调控的分子机制, 可为筛选获得小菜蛾遗传防控新靶标奠定基础。利用生物信息学分析及基因克隆验证获得 *PxSPH-1* 基因的全长 cDNA 序列, 并分析其分子特征; 通过 RT-qPCR 技术检测 *PxSPH-1* 基因在不同龄期与组织的表达模式; 基于 CRISPR/Cas9 技术解析 *PxSPH-1* 基因对小菜蛾精包形态、精子活性、产卵量及孵化率的影响。小菜蛾 *PxSPH-1* 基因全长 1206 bp, 共编码 401 个氨基酸, 预测蛋白大小为 46 kDa, 等电点 6.82。 *PxSPH-1* 基因具有一个胰蛋白酶结构域, 但不具有完整的蛋白酶催化活性位点, 属于丝氨酸蛋白酶同系物。 *PxSPH-1* 氨基酸序列与鳞翅目昆虫同源序列间具有较高的相似性, 最高的为粉纹夜蛾 (46.38%); qPCR 结果显示 *PxSPH-1* 基因在雄成虫显著高表达, 且在附腺中的表达量最高, 其次是在精巢中微量表达, 而其他组织均未表达; CRISPR/Cas9 技术介导的 *PxSPH-1* 基因靶向突变, 成功构建缺失 4 bp 纯合突变品系; 生物学分析显示, *PxSPH-1* 基因敲除能显著抑制小菜蛾雌虫体内的精包形成, 且能明显降低小菜蛾产卵量与孵化率。本研究明确了小菜蛾精液丝氨酸蛋白酶同系物 *PxSPH-1* 的分子结构特征、表达模式以及其介导生殖调控的功能, 表明该基因在小菜蛾精包形成与生殖力维持中具有重要作用。

**关键词:** 小菜蛾, 丝氨酸蛋白酶同系物, CRISPR/Cas9, 精包形成, 生殖力

\*项目资助: 国家自然科学基金项目(31772166); 福建省自然科学基金项目(高校联合)(2019J01666); 福建农林大学杰出青年基金项目(Kxjq19003)

\*\*第一作者, E-mail: 308302518@qq.com

\*\*\*通讯作者, E-mail: PL526520@163.com, msyou@fafu.edu.cn

# 基于褐飞虱羽化行为节律的生物钟机制研究体系探究\*

黄旭<sup>1\*\*</sup> 依力哈木 热买提<sup>1</sup> 曾路影<sup>1</sup> 潘卫东<sup>2</sup> 万贵钧<sup>1\*\*\*</sup> 陈法军<sup>1\*\*\*</sup>

(1. 农作物生物灾害综合治理教育部重点实验室/南京农业大学植物保护学院昆虫系, 南京 210095;

2. 中国科学院电工研究所生物电磁学北京市重点实验室, 北京 100190)

**摘要:** 通过自主建立研究装置, 探究光周期线索影响下不完全变态昆虫——褐飞虱的昼夜羽化行为节律, 以期建立以羽化行为节律为内源昼夜生物钟机制研究表型的研究体系。本研究以褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 为研究对象, 使用 TN1 水稻幼苗室内继代饲养于光周期 14 h : 10 h LD (光照结束时间为 22:30; ZT0), 温度 26 °C, 相对湿度 70% 的环境中。通过预实验确定褐飞虱羽化行为节律研究装置最优参数后, 将以上饲养环境下间隔 12 小时内蜕皮至 5 龄的若虫转移到该装置 (温湿度同上)。参照完全变态昆虫用于生物钟机制研究的羽化行为节律表型处理方法: 继续在 14 h : 10 h LD 下处理试虫 3 日 (entrain), 在第 4 日分别于 DD 恒暗或继续在该 LD 光周期条件下记录并分析 24 h 内的褐飞虱羽化行为节律。自主探究建立了“基于时间生物学的小型动物生物节律表型全时监测装置” (专利申请号: 202110451346.3)。在 14 h : 10 h LD 条件下观察成虫羽化行为节律, 羽化过程平均耗时  $35.09 \pm 1.54$  min, 羽化节律 (统计单位为 2 h) 符合正态分布 (Kolmogorov-Smirnov test,  $P = 0.2$ ), 且羽化峰值出现于 ZT8, 其中长、短翅成虫亦分别符合正态分布 (Kolmogorov-Smirnov test,  $P \geq 0.116$ ); 在 DD 恒暗条件下观察成虫羽化行为节律, 羽化过程平均耗时  $33.79 \pm 1.80$  min, 与 LD 条件下无显著性差异 (One-way ANOVA,  $P = 0.59$ ), 羽化节律符合正态分布 (Kolmogorov-Smirnov test,  $P = 0.143$ ), 且羽化峰值出现于 ZT6, 其中长、短翅成虫亦分别符合正态分布 (Kolmogorov-Smirnov test,  $P = 0.2$ )。本研究证明了褐飞虱羽化行为具有明显的近昼夜节律, 且羽化高峰出现于暗期。DD 恒暗比 LD 条件下羽化高峰提前, 暗示其内源生物钟可能控制其羽化行为节律 ( $\tau < 24$  h)。研究结果同时佐证了自主研发监测装置的精确有效性。本工作的开展初步建立了基于褐飞虱羽化行为节律的生物钟机制研究体系, 未来将利用 RNAi 技术敲减生物钟核心基因对该体系进行进一步验证和完善。

**关键词:** 褐飞虱, 羽化行为, 光周期, 昼夜节律, 生物钟, 研究体系

\*基金项目: 国家自然科学基金项目 (32072413; 32172414; 31701787); 江苏省科协青年科技人才托举工程 (TJ-2021-003); 南京市留学人员科技创新项目

\*\*第一作者, E-mail: 2020802144@stu.njau.edu.cn

\*\*\*共同通讯作者, E-mail: guijunwan@njau.edu.cn, fajunchen@njau.edu.cn

# 两种云南松切梢小蠹胚后发育阶段表皮碳氢化合物分析\*

张梦蝶<sup>1\*\*</sup> 钱路兵<sup>1</sup> 泽桑梓<sup>2</sup> 杨斌<sup>1,3</sup> 李宗波<sup>1,3\*\*\*</sup>

(1. 西南林业大学生物多样性保护学院 云南省森林灾害预警与控制重点实验室, 昆明 650224;

2. 云南省林业和草原有害生物防治检疫局, 昆明 650224; 3. 西南山地森林资源保育与利用教育部重点实验室, 昆明 650224)

**摘要:** 云南松 (*Pinus yunnanensis*) 有维持西南地区生物多样性, 增加碳储量等多种生态功能, 但常年受生态位重叠、生活史相似的云南切梢小蠹 (*Tomicus yunnanensis*) 和横坑切梢小蠹 (*T. minor*) 为害。昆虫表皮碳氢化合物作为一类接触性信息素, 在同域近源种分类、配偶识别、生殖隔离等信息通讯与繁殖调控过程中具有指示作用, 也是害虫行为调控的重要理论依据。利用浸提法和固相微萃法提取两种切梢小蠹的表皮碳氢化合物, 并通过气象色谱-质谱联用以及谱库检索、C8-C40 烷烃混合标品、科瓦特指数等鉴定化合物的成分与含量, 接着用非度量多维尺度分析种间的差异程度。共鉴定出 32 种化合物, 主要是正链烷烃、支链烷烃和烯烃。其中, 云南切梢小蠹有 27 种, 化合物 3,7-dimethyl-1,3,6-octatriene、n-heneicosane、13-methyl-nonacosane 仅在 3 龄幼虫中被发现, n-pentadecane 仅存在于蛹中, 1-decyne 仅发现于蛀梢期的雄成虫, 交配后 3,7-dimethyl-1,3,7-Octatriene 与 1,19-Eicosadiene 被发现, N-Tetracosane 消失; 横坑切梢小蠹有 22 种, 2,6,10-trimethyl tetradecane 存在于蛀梢期雌、雄成虫中, 2-methyl-eicosane 仅在雄虫中被发现, n-pentacosane 和 13-methylnonacosane 在交配后消失。在胚后发育中, 3 龄幼虫具有的化合物种类最多, 且随着发育单个虫体化合物的含量增加 (蛹期除外), 碳链长度亦随之增加, 但雌雄间无明显差异。云南切梢小蠹和横坑切梢小蠹表皮碳氢化合物种类和含量明显不同, 可用来区分两种小蠹及其胚后发育阶段, 有利于建立快速鉴定方法以及筛选信息化物质, 并为两种切梢小蠹生态调控提供新方法。

**关键词:** 云南切梢小蠹, 横坑切梢小蠹, 云南松, 表皮碳氢化合物, 胚后发育, 配偶识别

\*基金项目: 国家自然科学基金项目(31560213, 31760210); 云南省基础研究重点项目(202101AS070009); 云南省农业基础研究联合专项重点项目(2018FG001-010); 云南省高层次人才培养支持计划青年拔尖人才项目(51900110)

\*\*第一作者, E-mail: mdzhang9@outlook.com

\*\*\*通讯作者, E-mail: lizb@swfu.edu.cn

# 广州季节性气候变化对白纹伊蚊发育和 DENV-2 易感性的影响\*

郑学礼\*\* 吴珊珊 何玉兰

(南方医科大学公共卫生学院病原生物学系, 广州 510515)

**摘要:** 模拟不同季节环境下白纹伊蚊对登革热 2 型的敏感性。在野外环境条件下进行了四个季节的蚊虫生命表试验。模拟野外夏季和冬季外环境条件, 用经口饲食方式, 将蚊感染登革病毒, 观察模拟夏冬两个环境条下的蚊对登革-II 病毒的易感性。实时荧光定量 PCR 检测感染后第 7 天、14 天蚊虫头部、卵巢、中肠的病毒量及蚊虫免疫相关基因表达。不同季节的白纹伊蚊幼虫化蛹率和及其蛹羽化率显著不同。冬季白纹伊蚊蛹的羽化率低于夏季。但在广州地区冬季环境中的白纹伊蚊仍然经历了基本的生长发育过程。实时荧光定量 PCR 检测感染后第 7 天、14 天蚊虫头部、卵巢、中肠的感病毒量的结果显示: 模拟野外环境中的蚊比实验室环境下的蚊更容易感染 DENV-2。模拟夏季的白纹伊蚊感染 DENV-II 后 7 天中肠组织病毒 RNA 水平高于冬季的蚊感染病毒者 ( $F = 14.459$ ,  $P = 0.01$ ); 夏季第 7 天卵巢病毒 RNA 水平高于冬季第 7 天 ( $F = 8.656$ ,  $P < 0.001$ ), 但其他时间点病毒载量无显著差异 ( $P > 0.05$ )。冬季第 7 天 Dicer-2 mRNA 的表达量是夏季第 7 天的 4.071 倍, 病毒载量与 Dicer-2 表达量呈中度相关。广州冬季环境下的白纹伊蚊仍有传播登革热病毒的能力, 需要改进登革热疫情防控措施。本研究结果为广州市制定应对全球气候变化的登革热控制策略, 提供了重要参考。

**关键词:** 白纹伊蚊, 登革病毒, 野外环境, 生命量表

\*基金项目: 国家自然科学基金项目 (31630011); 广州市科技计划项目 (201804020084)

\*\*通讯作者, E-mail: zhengxueli2001@126.com

# Cryptochrome 1 对褐飞虱翅型分化的调控功能及潜在机制探究\*

曾路影<sup>1\*\*</sup> 张颖<sup>1</sup> 黄旭<sup>1</sup> 吕长宁<sup>1</sup> 潘卫东<sup>2</sup> 万贵钧<sup>1\*\*\*</sup> 陈法军<sup>1\*\*\*</sup>

(1. 农作物生物灾害综合治理教育部重点实验室/南京农业大学植物保护学院昆虫学系, 南京 210095;

2. 中国科学院电工研究所生物电磁学北京市重点实验室, 北京 100190)

**摘要:** 基于本团队所发现的褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 翅型分化可响应磁场强度变化这一现象, 本研究拟初探磁感受(磁响应)关键基因 *Cryptochrome 1* (*Cry1*) 对褐飞虱翅型分化的潜在调控功能和作用机制。使用 TN1 水稻幼苗在光周期 14 h : 10 h LD, 温度 26 °C, 相对湿度 70% 的环境中继代饲养实验用褐飞虱。采用基于显微注射的 RNAi 技术, 向 4 龄末 5 龄初若虫体内注射 35 nL dsRNA (ds*Cry1* vs. ds*GFP*), 注射后 2 d 及 4 d (已羽化为成虫) 后检测 *Cry1* 干扰效率 (vs. ds*GFP*) 均大于 90%, 统计羽化成虫的长、短翅型比例。为探索 *Cry1* 介导的翅型分化调控潜在信号通路, 单头单管收集注射 dsRNA 后 2 d 的 5 龄若虫, 分析若虫整体及头、胸、腹部组织内已报道与翅型分化调控相关的保幼激素 (*Jhamt*), *Insulin* (*InR1*、*InR2*、*Chico*、*Akt* 和 *Foxo*) 及 JNK (*JNK* 和 *Jun*) 信号通路中关键基因的转录表达情况。独立开展的三批翅型分化验证实验中, 注射 ds*Cry1* (vs. ds*GFP*) 后褐飞虱短翅比例均明显提高, 且总体极显著提高 26.70% ( $\chi^2 = 11.430$ ,  $P = 0.001$ )。对褐飞虱 5 龄若虫翅型调控相关基因整体和组织转录表达谱研究发现, 敲减 *Cry1* 后 (敲减效率大于 90%): 褐飞虱若虫整体 *InR1*、*InR2*、*Foxo* 和 *JNK* 转录表达水平均显著下调 (Student's *t*-test,  $P \leq 0.041$ ); 头部 *InR1*、*InR2*、*Akt*、*Foxo* 和 *JNK* 转录表达水平均显著下调 (Student's *t*-test,  $P \leq 0.038$ ); 胸部 *InR2*、*Foxo*、和 *JNK* 转录表达水平均显著下调 (Student's *t*-test,  $P \leq 0.047$ ); 腹部 *InR2* 和 *Chico* 转录表达水平均显著上调 (Student's *t*-test,  $P \leq 0.048$ )。证实了 *Cry1* 为褐飞虱翅型分化调控的关键基因, 推测其或通过包括 *Insulin* 和 JNK 信号通路在内的翅型分化调控网络调控褐飞虱的翅型分化, 且该过程可能存在组织特异性调控机制。

**关键词:** 褐飞虱, 隐花色素 Cryptochrome 1, 翅型分化, 信号通路, RNAi, 基因表达谱

\*基金项目: 国家自然科学基金项目 (32072413; 32172414; 31701787; 31670855); 江苏省科协青年科技人才托举工程 (TJ-2021-003); 南京市留学人员科技创新项目

\*\*第一作者, E-mail: 2019102067@njau.edu.cn

\*\*\*共同通讯作者, E-mail: guijunwan@njau.edu.cn; fajunchen@njau.edu.cn

# 不同植物对草地贪夜蛾生长发育及其唾液蛋白基因表达的影响

蔡香云<sup>1,2\*</sup> 王亚如<sup>1,2</sup> 侯有明<sup>1,2\*\*</sup>

(1. 福建农林大学闽台作物有害生物生态防控国家重点实验室, 福州 350002; 2. 福建农林大学植物保护学院, 福州 350002)

**摘要:** 草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 又称秋黏虫, 是一种鳞翅目夜蛾科的入侵害虫, 于 2019 年入侵我国, 对我国农产品造成极大的经济损失, 尤其是玉米。为了明确草地贪夜蛾的生长发育以及唾液蛋白的表达情况是否与取食不同植物有关, 本文首先研究了草地贪夜蛾取食玉米、烟草和人工饲料的生长发育情况, 结果显示取食玉米的草地贪夜蛾发育历期更短、产卵率更高、幼虫存活率更高、成虫历期更长。其次, 我们将以人工饲料为食的草地贪夜蛾 4 龄幼虫接种于玉米和烟草植株上, 以分别取食玉米和烟草 0 h、0.5 h、2 h、6 h、12 h 后的昆虫样本为研究对象, 并通过 qRT-PCR 分析昆虫唾液蛋白相关基因的表达情况。结果显示, SfAK、SfLy、SfFL、SfAr 和 SfPDI 共 5 个唾液蛋白基因均在取食植物 2 h 时显著上调。据该结果可知草地贪夜蛾的生长发育以及唾液蛋白的表达情况与取食不同植物相关, 并由此推测唾液蛋白可能在昆虫适应寄主植物中发挥着重要作用, 也可能调节植物的生命活动从而影响昆虫生长发育。

**关键词:** 草地贪夜蛾, 寄主植物, 唾液蛋白, 生长适合度

\*第一作者, E-mail: 15797686945@163.com

\*\*通讯作者, E-mail: ymhou@fafu.edu.cn

# 橘小实蝇肠道真菌多样性及其对宿主的功能\*

顾健\*\* 郭琼钰\*\* 张栩浩 张宏宇\*\*\*

(华中农业大学植物科技学院农业微生物学国家重点实验室, 园艺植物生物学教育部重点实验室)

**摘要:** 真菌与昆虫的关系在自然界中是多种多样的, 影响宿主的生长发育, 食物的消化和吸收以及防御及各种行为等多种生命活动, 但是目前昆虫肠道真菌和昆虫的互作关系尚处于初始阶段。本研究通过高通量测序、微生物培养等技术系统研究了农业重要害虫橘小实蝇幼虫不同发育阶段和地理种群肠道真菌群落的结构和多样性, 并通过无菌生物学方法揭示了共生真菌对宿主橘小实蝇生长速度、体重、翅长、飞行能力等生长发育的影响, 为阐明真菌与昆虫互作机制提供科学依据, 为橘小实蝇的防治提供新的策略和靶标。

**关键词:** 橘小实蝇, 肠道真菌, 共生菌, 益生作用

\*基金项目: 国家重点研发计划项目(2019YFD1002100); 财政部和农业农村部国家现代农业产业技术体系(CARS-26)和国家自然科学基金(31872931)

\*\*共同第一作者

\*\*\*通讯作者

## 豇豆蓟马的高效防控技术研究\*

黄立飞<sup>1,2</sup> 姜建军<sup>1</sup> 刘妤玲<sup>2</sup> 曹雪梅<sup>1</sup> 杨朗<sup>1\*\*</sup>

(1. 广西农业科学院植物保护研究所/广西作物病虫害生物学重点实验室, 南宁 530007;

2. 广西田园生化有限公司, 南宁 530000)

**摘要:** 豇豆蓟马 (*Megalurothrips usitatus*) 作为豇豆上的一种常见的害虫, 由于虫体小, 为害轻时难发现不易引起重视, 若虫、成虫常潜伏于嫩芽、花蕊、花瓣的重叠处锉吸寄主嫩梢, 具有很强的隐蔽性。目前该害虫的防治仍以化学防治为主, 一般杀虫剂难以直接接触杀而杀死虫体, 另外由于蓟马对杀虫剂易产生抗药性, 防治很难达到理想效果。为了寻求防治豇豆蓟马的有效技术方法, 笔者通过膜下滴灌和无人机飞防等省力化的施药方式相结合, 辅以悬挂蓝色粘虫板, 探索一种省工、省时的用药方式, 以期为高效、省力化防控豇豆蓟马提供理论依据和技术支撑。

**关键词:** 蓟马, 膜下滴灌, 无人机飞防, 害虫防治

\*基金项目: 广西科技重大专项 (桂科 AA17204041), 广西作物病虫害生物学重点实验室系统课题 (2020-ST-03), 广西农业科学院基本科研业务专项 (桂农科 2021YT068)

\*\*通讯作者, E-mail: yang2001lang@163.com

# 普通大蓟马成虫气味对子代性比的影响

杨鹤鸣<sup>1,2</sup> 但建国<sup>1</sup> 周世豪<sup>2</sup>

(1. 海南大学植物保护学院, 热带农林生物灾害绿色防控教育部重点实验室, 海口 570228;

2. 海南大学林学院, 海口 570228)

**摘要:** 普通大蓟马 *Megalurothrips usitatus* (Bagrall) 是海南豇豆 *Vigna unguiculata* (L.) Walp. 上的头号害虫。本研究旨在了解周边成虫的气味对其性别分配的影响。在  $(26 \pm 1) ^\circ\text{C}$ 、相对湿度  $60\% \pm 5\%$ 、光周期 L : D = 14 : 10 条件下, 评价成虫伴侣的气味对刚羽化成虫 (1 对) 交配的干扰效应。试验设定 4 种气味源: 对照 (无气味)、已交配雌虫 (6 头)、未交配雌虫 (6 头) 和已交配雄虫 (6 头)。待测成虫和气味源成虫均以 10% 蔗糖溶液为食。24 h 后将待测雌虫转移到试管中进行单头饲养, 以幼嫩豇豆豆荚供食和产卵。每天更换豆荚, 直至雌虫死亡。将更换出来的豆荚在新试管中继续饲养。记录每头亲代雌虫的产卵天数、所产子代的成虫性别和数量, 计算子代成虫性比 (即雄性成虫所占比例)。普通大蓟马雌虫在交配期间所感受到的成虫伴侣气味对其子代成虫性比有显著的影响。同对照相比 (0.31), 已交配雌虫和未交配雌虫的气味分别导致子代成虫性比显著上升和下降, 其值分别为 0.48 和 0.22。已交配雌虫气味对性别分配的干扰作用源自雌性子代数量 (22.80 头/♀) 显著减少, 表明该气味能抑制亲代雌虫交配时的获精能力。亲代雌虫的产卵天数不受成虫气味源的影响, 其值介于 11.52–12.96 d。普通大蓟马已交配雌虫的气味能减少雌性子代的数量, 促使子代成虫性比上升, 这意味着等待交配的普通大蓟马雌虫能靠嗅觉感知周边雌虫的交配状况, 对子代性比进行自我调控。

**关键词:** 普通大蓟马, 豇豆, 成虫伴侣, 气味, 性比

# 北京樱桃园果蝇种类组成和种群动态调查

杨帆\* 王泽华 孙昂 王山宁\*\*

(北京市农业科学院植物保护研究所, 北方果树病虫害绿色防控北京市重点实验室, 北京 100097)

**摘要:** 果蝇是樱桃主要害虫之一, 幼虫蛀食樱桃果实, 严重影响果实外观和品质。目前, 北京樱桃种植面积不断扩大, 樱桃果蝇的危害应引起关注。但北京樱桃园果蝇种类缺乏详细记录, 种群动态尚不明确。2021年5-7月, 在樱桃成熟期, 我们利用悬挂酒醋液诱捕器的方法对北京通州区樱桃园果蝇进行了系统的监测和调查。根据形态特征对收集到的果蝇进行鉴定分类, 并通过分子检测方法对物种信息进行核实。根据分子检测的结果, 共收集到10种果蝇, 分别为斑翅果蝇 *Drosophila suzukii*、叔白颜果蝇 *Drosophila triauraria*、巴氏果蝇 *Drosophila busckii*、伊米果蝇 *Drosophila immigrans*、海德氏果蝇 *Drosophila hydei*、黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*、拟果蝇 *Drosophila simulans*、冈田绕眼果蝇 *Amiota okadai*、*Scaptomyza elmoi* 和 *Scaptodrosophila sp.*。由于黑腹果蝇和拟果蝇、*S. elmoi* 和 *Scaptodrosophila sp.*在形态上较难区分, 我们在统计数量时作为一组。共诱集到果蝇数量2557头, 其中巴氏果蝇最多, 928头, 占总果蝇数量的36.3%, 其次是叔白颜果蝇435头(17.0%), *Scaptomyza elmoi* 和 *Scaptodrosophila sp.* 388头(15.2%); 冈田绕眼果蝇仅诱集到5头, 数量最少, 其它果蝇数量均超过80头; 诱集到斑翅果蝇数量为178头, 占总果蝇数量7.0%。巴氏果蝇、伊米果蝇、海德氏果蝇和果蝇组合(*S. elmoi*, *Scaptodrosophila sp.*)的数量随时间有下降趋势, 叔白颜果蝇和果蝇组合(黑腹果蝇, 拟果蝇)数量随时间增长, 斑翅果蝇数量先增长后下降。北京樱桃园果蝇较其它地区报道樱桃园果蝇种类更丰富, 组成也不同。斑翅果蝇种群消长与樱桃果实成熟时间相吻合, 在果实结果前应做好防范, 谨防斑翅果蝇暴发对果实造成严重危害。本文调查了北京樱桃园果蝇物种组成和发生动态, 为本地果蝇的防治工作提供支持和指导。

**关键词:** 北京樱桃园, 果蝇, 种类组成, 种群动态

\*第一作者, E-mail: evelynyangfan@163.com

\*\*通讯作者, E-mail: wangshanning@yeah.net

# 进化和生态因子对高山草甸植物-熊蜂传粉网络的影响研究

梁欢

(中国科学院武汉植物园, 武汉 430074)

**摘要:** 传粉是植物与动物间互惠关系的重要组成部分, 群落中不同植物与传粉者相互作用, 构成复杂的传粉网络。研究进化历史和生态因子如何影响传粉网络结构是生态学的核心问题之一, 然而以往研究仅侧重对其中一或两个机制的分析, 整合多个因子研究鲜有报道。熊蜂属 (*Bombus*) 是蜜蜂科的一类重要传粉昆虫, 广泛分布于北温带和高山地区, 对自然生态系统和农业生产均具有重要的生态和经济价值。在我国西南山地, 熊蜂是传粉昆虫中极其重要的网络枢纽物种。近年来由于全球气候变化、人为活动干扰等因素, 全世界熊蜂多样性明显下降, 部分物种濒临灭绝甚至已经灭绝。相比于欧洲和北美, 我国对熊蜂的基础研究仍然十分滞后, 尤其是在生物多样性热点地区喜马拉雅-横断山区, 群落水平植物-熊蜂传粉网络的研究几乎为空白。

本研究选择滇西北丽江玉龙雪山海拔 3200 米的五个高山草甸样地, 利用生态网络的理论, 结合系统发育、功能性状、多度和物候等 13 个因子, 研究了群落中植物-熊蜂 2428 次相互作用模式的构建机制。研究表明, 传粉网络具有显著的系统发育信号, 近缘熊蜂倾向于访问形态相似的植物, 花蜜体积和含量是解析系统发育吸引模式最重要的性状。在物种水平上, 尽管长喙的熊蜂倾向于访问具长花冠管植物, 但是短喙熊蜂在不同花冠管长间是泛化传粉。个体水平上, 熊蜂喙长-花冠管长、熊蜂身体大小-花开口宽度两类性状匹配均能解释植物-熊蜂的互作模式。本研究首次在生物多样性热点地区喜马拉雅-横断山脉, 综合多种进化和生态因子较全面地解析了植物-熊蜂互作模式构建机制。鉴于熊蜂在生态和农业上的重要价值, 以及本研究中发现一个新种的事实, 未来研究需要进一步关注该地区熊蜂传粉网络的时空变异格局, 以及气候变化、生境丧失等干扰对表型、分布和互作模式可能造成的影响。

**关键词:** 熊蜂, 功能性状, 进化因子, 生态因子, 高山传粉网络

# 基于全长转录组的长白山东方蜜蜂越冬期耐寒适应性分析\*

刘楠楠 常志光 李杰鑫 张发 何金明 牛庆生

(吉林省养蜂科学研究所, 吉林 132108)

**摘要:** 本研究以越冬期的长白山东方蜜蜂为研究对象, 利用Oxford Nanopore全长转录组测序技术, 深入探讨和解析长白山东方蜜蜂的寒冷适应性。通过识别每条 clean read 两端引物鉴定全长转录本序列; 利用Astalavista软件分析转录本发生的可变剪接事件和发现融合转录本; 采用TAPIS pipeline来识别可变多聚腺苷酸化, MISA软件做SSR分析, TansDecoder软件进行新转录本编码区序列及其对应氨基酸序列的预测, animalTFDB 3.0软件做转录因子预测; 分别应用CPC分析、CNCL分析、CPAT、pfam蛋白结构域分析四种方法对新发现的转录本进行lncRNA的预测; 对差异表达转录本和差异表达基因进行COG、GO、KEGG、KOG、Pfam、Swiss-Prot、eggNOG和NR数据库的功能注释和富集分析。共完成长白山东方蜜蜂12个样品的全长转录组测序, 每个样品测序产出clean data均达到2.07GB, 得到的全长序列个数从1 490 392到2 368 313不等, 共获得17 398条转录本序列; 越冬期长白山东方蜜蜂转录本发生的可变剪接事件主要是Exon skipping和Intro retention, 每个样品得到的融合转录本从41到58不等; 越冬期各月份转录组基因APA位点个数分布是一致的, 所占比例最大的是含有1个位点; 转录本序列结构分析共预测得到5 941个完整ORF序列、1 193个lncRNA, 10 866个SSR, 619个转录因子; 对所有样品去冗余后的转录本与参考基因组已知注释进行比较分析, 其中新基因位点2 124个, 新发现转录本14 143个; 对11599个新转录本进行功能注释, 其中分别有3 662、8 013、6 363、7 624、4 168、7 016、10 725和11 571条可注释到COG、GO、KEGG、KOG、Pfam、Swiss-Prot、eggNOG和Nr数据库。研究结果可完善东方蜜蜂的转录组注释信息, 可为深入洞察长白山东方蜜蜂的越冬适应性分子机制以及抗寒蜂种的分子选育提供关键基础。

**关键词:** 长白山东方蜜蜂, 越冬期, 纳米孔测序, 全长转录组, 耐寒

\*基金项目: 中央引导地方科技发展资金吉林省基础研究专项(202002060JC); 吉林省科技发展计划项目(20191004021TC); 2021年度省级部门预算科学研究项目

# 梨小食心虫成虫复眼的超微结构观察\*

杨小凡 路子云 马爱红 冉红凡 刘文旭 李建成\*\*

(河北省农林科学院植物保护研究所, 河北省农业有害生物综合防治工程技术研究中心, 农业部华北北部作物有害生物综合治理重点实验室, 河北保定 071000)

**摘要:** 复眼是昆虫感受外界光环境的重要媒介。为阐明夜行性梨小食心虫 *Grapholita molesta* (Busck)的复眼类型及结构特征, 本研究利用组织解剖学和电子显微镜技术观察成虫复眼的超微结构, 以期明确梨小食心虫应对光环境变化的调节机制。结果表明, 梨小食心虫成虫小眼由角膜、晶锥、8个视网膜细胞、视杆和基膜组成, 其中小眼周围环绕着2个初级色素细胞和6个次级色素细胞, 同时基膜处也有色素颗粒分布, 且气管密集。角膜位于小眼的最远端直径约为  $7.81\ \mu\text{m}$ , 由质地不同的层状结构组成的凸形; 晶锥和视杆直接相连, 属于非典型重叠像眼; 远端视网膜细胞 R1-7 形成融合型视杆, 近端视网膜细胞 R8 较短, 仅位于小眼基部。梨小食心虫成虫复眼在明暗适应下其小眼超微结构发生相应变化: 明适应时, 色素细胞内色素颗粒均匀分布在晶锥和视杆周围; 暗适应时, 色素细胞内色素颗粒逐渐向远心端移动, 聚集在晶锥周围。

**关键词:** 梨小食心虫, 复眼, 超微结构, 非典型重叠像眼, 调节机制

\*基金项目: 河北省自然科学基金 (C2021301029); 河北省重点研发计划项目 (19226511D, 20326511D)

\*\*通讯作者, E-mail: lijiancheng08@163.com

# 入侵昆虫草地贪夜蛾对湖南省主要农作物的产卵和取食选择研究

黄至畅<sup>1,2\*</sup> 吴明峰<sup>1,2</sup> 龙楚云<sup>1,2</sup> 余倩莎<sup>1,2</sup> 李建明<sup>1,2</sup> 欧晓明<sup>1,2\*\*</sup>

(1. 湖南化工研究院国家农药创制工程研究中心/湖南省农用化学品重点实验室, 长沙 410014;

2. 湖南加法检测有限公司, 长沙 410014)

**摘要:** 草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 是一种重大入侵害虫, 其寄主范围广, 能为害多种农作物。本研究旨在明确草地贪夜蛾对湖南省主要农作物的产卵选择和取食选择偏好, 更好地掌握其田间发生动态, 进而分析草地贪夜蛾对我省农作物的为害风险。本文分别以玉米、水稻、柑橘、烟草、辣椒、芝麻、棉花 7 种农作物为测试对象, 测定草地贪夜蛾成虫产卵选择偏好, 测定初孵幼虫、1-6 龄幼虫对 7 种农作物的取食选择和 3 龄幼虫取食不同植物的存活率。草地贪夜蛾成虫对不同农作物有明显的产卵选择偏好。自由产卵 6 天, 其中玉米上的产卵量最高, 平均日产卵量为  $(468.24 \pm 65.72)$  粒, 占有供试农作物总产卵量的 49.91%, 柑橘上产卵量最低, 平均日产卵量为  $(23.89 \pm 3.24)$  粒, 占有供试农作物总产卵量的 2.55%, 产卵偏好为玉米 > 芝麻 > 棉花 > 水稻 > 烟草 > 辣椒 > 柑橘。初孵幼虫、1-6 龄幼虫对 7 种农作物取食选择存在显著差异。初孵幼虫对玉米表现出较强的选择性, 其次是水稻, 对其他农作物不选择。1-2 龄幼虫对玉米和水稻取食选择无显著差异, 但显著高于柑橘、辣椒等农作物, 1-2 龄幼虫不取食烟草, 取食选择偏好为玉米 > 水稻 > 棉花 > 芝麻 > 柑橘 > 辣椒。3 龄后幼虫取食选择发生变化, 开始取食烟草。3-6 龄幼虫取食选择表现出一致性。均为玉米 > 水稻 > 烟草 > 棉花 > 芝麻 > 柑橘 > 辣椒。3 龄幼虫取食 7 种寄主植物的存活率存在显著差异, 取食玉米存活率最高 (98.52%), 取食柑橘存活率最低 (12.46%)。存活率依次为玉米 > 水稻 > 棉花 > 芝麻 > 烟草 > 辣椒 > 柑橘。草地贪夜蛾在玉米上表现出更高的选择性, 其偏好在玉米上产卵和取食。但也可以通过取食水稻、棉花幼苗等正常生长发育并完成生活史, 在轮作或间作区域, 可以迁移危害柑橘、烟草、芝麻、棉花等农作物。尤其是在其种群密度大时, 存在危害其他农作物的潜在风险, 应该加强其他农作物上, 尤其是水稻上的预测预报, 并做好防控预案。

**关键词:** 草地贪夜蛾, 产卵和取食, 选择性

\*第一作者, E-mail: 591611226@qq.com

\*\*通讯作者, E-mail: xmouhn@163.com

# 栎黄枯叶蛾和沙棘木蠹蛾种间互作生理研究

高 飞 张佳佳 高拖弟 刘永华\*

(榆林学院生命科学学院, 陕西榆林 719000)

**摘要:** 通过研究寄主沙棘受栎黄枯叶蛾和沙棘木蠹蛾危害后产生的生理变化, 探讨寄主植物介导的两种害虫种间互作的生理基础, 以为陕北沙棘人工林害虫防治提供参考依据。以两种害虫分别作为地上、下的植食者, 采用两因素交互试验设计对健康沙棘进行接虫处理, 采集不同危害处理后的沙棘茎叶(上部)、根系(下部), 分别测定其可溶性糖、可溶性蛋白质、单宁、黄酮的含量, 对其不同处理及不同部位进行单因素方差分析。结果表明, 受栎黄枯叶蛾单独危害后, 沙棘上部可溶性糖、可溶性蛋白质含量显著下降, 对上部害虫生长发育产生较大不利影响; 受沙棘木蠹蛾单独危害后, 沙棘上、下部可溶性糖含量均有所上升, 对下部害虫产生有利促进作用; 受两种害虫共同危害后, 沙棘上、下部可溶性糖、可溶性蛋白质含量均上升, 对两种害虫生长发育均有利, 而寄主沙棘对虫害的抵抗能力也相应增强; 所有不同接虫处理后, 沙棘下部单宁、黄酮含量均显著升高, 只对下部害虫生长发育产生不利抑制作用。综上说明, 两种害虫共存时取食危害诱导的寄主沙棘生理改变, 对上部害虫栎黄枯叶蛾生长发育具偏利促进作用, 而对下部害虫沙棘木蠹蛾取食发育有较大抑制作用。

**关键词:** 沙棘, 生理变化, 栎黄枯叶蛾, 沙棘木蠹蛾, 种间互作

\*通讯作者

# 中国中部山地蝎蛉避难所探寻\*

高凯 花保祯\*\*

(西北农林科技大学植物保护学院, 昆虫博物馆, 陕西杨凌 712100)

**摘要:** 山地作为地球上最复杂的地貌类型, 占据着较小比例的陆地面积, 但却拥有极高的生物多样性。第四纪气候波动对全球生物多样性分布模式具有极其显著的影响。单角蝎蛉属 *Cerapanorpa* Gao, Ma & Hua, 2016 (长翅目 Mecoptera: 蝎蛉科 Panorpidae) 因雄虫腹部第 6 节背板后缘具 1 个指状臀角而得名, 是中国特有属, 广泛分布在中国中部海拔 1500–3000 m 的冷凉山区, 呈‘天空岛’状分布格局, 属典型的适冷生物和重要的生态指示昆虫, 是研究山地生物多样性形成和维持机制的绝佳材料。本文以单角蝎蛉属 2 个广布种 (短角单角蝎蛉 *C. brevicornis* 和太白单角蝎蛉 *C. obtusa*) 为研究对象, 采用 *COI*, *COII*, *Cytb*, *28S rRNA* 和 *EF-1 $\alpha$*  等基因标记, 基于比较形态学、生物地理学和物种分布模型证据, 研究两个物种的谱系地理结构和种群动态历史, 探讨其谱系分化驱动力, 推测单角蝎蛉在第四纪气候波动下的扩散廊道和避难所位置, 追溯其演化历程。短角单角蝎蛉包含 2 个遗传支系, 支系 I 广布于秦岭、巴山和岷山山脉, 支系 II 仅分布在巴山东段的高海拔地区。两大支系的分歧时间与更新世中期的‘超长间冰期’相吻合。巴山东段的高山地带在气候炎热的间冰期可为短角蝎蛉提供较为适宜栖息地 (小避难所); 同样具有较高的遗传多样性的秦岭是该物种的间冰期大避难所。此外, 两大支系的雌雄虫生殖器形状和大小均具有显著差异, 我们建议支系 II 应提升为种, 作为气候变暖背景下重要的指示物种。巴山东段的高海拔地区应当视为山地生物多样性保护的优先区域。太白单角蝎蛉包含 6 个遗传支系, 其中 4 个小支系分布于岷山, 2 大支系则分布于北方的秦岭、六盘山、子午岭、黄龙山和青藏高原东北边缘。祖先区域重建表明太白蝎蛉在更新世早期起源于岷山, 随后扩散至秦岭, 一部分沿青藏高原东北缘向西北扩散, 另一部分经六盘山扩散至东北部的子午岭和黄龙山地区。岷山极其复杂的地貌为太白蝎蛉提供了很多微避难所, 微避难所之间在长期的遗传漂变和自然选择等作用下产生显著的遗传分化, 从而使岷山成为山地生物的特有种起源中心。

**关键词:** 生物多样性, 生物地理, 间冰期, 天空岛, 遗传分化

\*基金项目: 国家自然科学基金项目资助 (31672341)

\*\*通讯作者, E-mail: huabzh@nwafu.edu.cn

# 烟草响应多食性昆虫棉铃虫和寡食性昆虫烟青虫取食的防御反应研究

李亚璐 陈雪维 邓中原 李显春

(1. 郑州大学农学院, 郑州 450001; 2. 亚利桑那大学昆虫学系, 美国亚利桑那州 85721)

**摘要:** 植物与植食性昆虫通过复杂的机制在协同进化过程中相互适应。多食性昆虫棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Hübner) 和寡食性昆虫烟青虫 *Helicoverpa assulta* (Guenée) 是两种近缘种昆虫, 烟草 *Nicotiana tabacum* L. 是二者的共同寄主, 本研究将对烟草响应这两种昆虫取食引起的植物防御反应进行探究。本研究将利用 qRT-PCR 和 HPLC 测定烟草叶片中茉莉酸 (JA)、水杨酸 (SA) 和乙烯 (ET) 途径基因表达量和烟草叶片及根中烟碱含量, 从而比较两种昆虫取食、机械损伤模拟取食和无任何损伤四种处理下烟草防御反应的差异。研究发现, 与机械损伤和无任何损伤的对照组相比, 棉铃虫和烟青虫取食都会诱导更高的 JA 途径响应基因 (*LOX*、*AOS*、*MYC2a*、*JAZ*、*PPO* 和 *PI*)。相反地, 棉铃虫和烟青虫取食抑制了 SA 途径响应基因 (*ICS*) 和 ET 途径响应基因 (*ACS*) 表达。进一步我们发现, 棉铃虫诱导的 JA 途径防御基因的表达水平显著高于烟青虫取食诱导的表达水平 (*LOX*, 棉铃虫  $11.587 \pm 1.548$ , 烟青虫  $5.652 \pm 1.593$ ,  $P = 0.002$ ; *AOS*, 棉铃虫  $2.496 \pm 0.204$ , 烟青虫  $1.457 \pm 0.296$ ,  $P = 0.003$ ; *MYC2a*, 棉铃虫  $1.219 \pm 0.158$ , 烟青虫  $0.764 \pm 0.0844$ ,  $P = 0.016$ ; *PI*, 棉铃虫  $30.242 \pm 5.025$ , 烟青虫  $15.004 \pm 3.794$ ,  $P = 0.002$ ; *PPO*, 棉铃虫  $52.363 \pm 13.140$ , 烟青虫  $18.777 \pm 4.58$ ,  $P = 0.01$ )。然而, 棉铃虫和烟青虫取食后烟草叶片和根部的烟碱含量无显著差异。以上研究结果表明, 多食性昆虫棉铃虫和寡食性昆虫烟青虫取食烟草诱导了不同水平的防御反应, 这些结果有利于深入了解植食性昆虫和寄主植物之间的协同进化机制。

**关键词:** 棉铃虫, 烟青虫, 植物防御反应, 茉莉酸途径, 水杨酸途径, 乙烯途径, 烟碱

# 蓟马对 13 种寄主植物挥发物的行为选择反应\*

王 怡<sup>1\*\*</sup> 刘红霞<sup>2</sup> 孔维娜<sup>3</sup> 李 捷<sup>1\*\*\*</sup>

(1. 山西农业大学园艺学院, 太谷 030801; 2. 山西农业大学基础部, 太谷 030801;

3. 山西农业大学植物保护学院, 太谷 030801)

**摘要:** 黄花菜 (*Hermerocallis citrina* Baroni) 属百合科萱草属宿根草本植物, 在现蕾期和开花期易受蓟马危害, 进而严重影响产量和品质。大同黄花菜为国内品质最好的黄花菜品种之一。通过对田间调查及 DNA 条形码 CO1 基因鉴别, 为害 7 月黄花菜的蓟马种类是花蓟马, 危害率甚至可达 100%。由于蓟马对黄花菜的主要为害期为现蕾期和开花期, 与采收期重叠。因此, 实现绿色防控蓟马成为当前大同黄花菜生产中亟待解决重要问题。利用以植物挥发物为主的理化诱控技术诱杀蓟马成为当前主要的绿色防控手段之一。本试验采用 Y 型嗅觉仪测定蓟马对 4 个浓度 ( $10^{-1}$ 、 $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$  和  $10^{-4}$ ) 的 13 种挥发物 (苯甲醇、对茴香醛、香叶醇、橙花醇、里那醇、香茅醇、丁香油酚、香叶基丙酮、乙位紫罗兰酮、正壬醛、芳樟醇、反-2-己烯醇、顺-3-己烯醇) 的选择行为反应。随挥发物浓度的降低, 蓟马的选择率整体上呈先上升后下降的趋势。蓟马对对茴香醛、香叶醇、橙花醇、香茅醇、香叶基丙酮、芳樟醇的选择率整体上较高。当浓度为  $10^{-1} \mu\text{L}$  时, 蓟马仅对 5 种物质有选择, 且选择率小于 30%。当浓度为  $10^{-2} \mu\text{L}$  时, 蓟马对对茴香醛、丁香油酚、香叶基丙酮、芳樟醇、顺-3-己烯醇选择率较高, 为 60%–70%。当浓度为  $10^{-3} \mu\text{L}$  时, 蓟马对对茴香醛、香叶醇、橙花醇、香茅醇、香叶基丙酮选择率较高, 为 80%–100%。当浓度为  $10^{-4} \mu\text{L}$  时, 蓟马对苯甲醇、对茴香醛、香叶醇、橙花醇、香茅醇、香叶基丙酮、芳樟醇的选择率较高, 为 70%–90%。 $10^{-3} \mu\text{L}$  的香叶醇和香茅醇对蓟马产生较强的引诱作用。本研究结果为下一步开发可用于田间诱杀蓟马的嗅觉引诱剂提供理论基础, 为蓟马种群的监测和防治策略提供了技术支持。

**关键词:** 黄花菜, 蓟马, 嗅觉引诱剂, 绿色防控

\*基金项目: 大同黄花产业发展研究院科研合作项目(2020HXDTHH03)

\*\*第一作者, E-mail: wangyigg@126.com

\*\*\*通讯作者, E-mail: lijie303@yeah.net

# 海拔梯度下传粉昆虫喙长-花管长特征匹配的变化研究

赵延会<sup>1</sup> Amparo Lázaro<sup>2</sup> 李海东<sup>3</sup> 陶至彬<sup>4</sup> 梁欢<sup>4</sup> 任宗昕<sup>1</sup> 王红<sup>1</sup>

(1. 中国科学院昆明植物研究所, 昆明 650201; 2. 地中海高级研究所, 西班牙; 3. 中国科学院动物研究所, 北京 100101; 4. 中国科学院武汉植物园, 武汉 430074)

**摘要:** 物种特征匹配和物种多度对动植物互惠网络(如传粉者-植物和种子传播网络)的建成和稳定具有重要影响,但两者在物种互作形成中扮演的角色沿海拔梯度的变化研究鲜有报道,尤其是针对于较为泛化的昆虫-植物互惠系统。本研究选择中国西南山地玉龙雪山不同海拔梯度(2 725–3 910 m)的四个高山草甸,研究膜翅目和双翅目访花昆虫物种组成,以及形态特征匹配和物种多度在膜翅目昆虫-植物、双翅目昆虫-植物相互作用;探讨了传粉昆虫的形态特征与其取食专一性的关系。研究表明,膜翅目和双翅目传粉昆虫以及植物的组成在不同海拔草甸群落间存在明显差异,这种差异主要随海拔变化由物种的空间替换所致。不同海拔的膜翅目昆虫-植物、双翅目昆虫-植物互作网络,昆虫喙长和被访问植物花管长度的特征匹配在物种互作关系建成中具有重要的作用。不同海拔梯度下,膜翅目昆虫-植物传粉网络中昆虫喙长-花管长存在显著的特征匹配;在双翅目昆虫-植物传粉网络中昆虫喙长-花管长的特征匹配仅存在较低海拔。研究发现,随着传粉昆虫喙长的增加,其访花专一性显著增加。物种组成、特征性状、特化水平和海拔变化共同影响物种互作和生态位分化。

**关键词:** 特征匹配, 海拔, 传粉网络, 访花专一性, 玉龙雪山

# 滇西北高海拔地区访花昆虫的双峰活动模式研究

徐 鑫\* 任宗昕 赵延会 Judith Trunschke 王 红

(中国科学院昆明植物研究所, 昆明 650201)

**摘要:** 植物-传粉者相互作用和适应是生态系统的重要过程之一, 也是驱动这两大生物类群多样化的重要成因, 对生态群落的构建和维持起到重要作用。传粉关系的建立需要传粉动物觅食活动时间和植物开花时间和节律相互匹配。在全球其他山地高山亚高山环境中, 日间精细时间尺度的传粉互作的动态和协同关系鲜有研究, 环境因子对群落传粉昆虫访花动态的影响也知之甚少。本研究在滇西北玉龙雪山选择海拔 3200 米的六个样地 (高山草甸和森林样地各三个), 量化两种不同生境中群落水平访花昆虫在一天内的访花动态和变化模式, 同时研究非生物因子, 包括温湿度、辐射等对昆虫访花动态的影响。研究共记录了六个访花昆虫功能群, 即熊蜂、中华蜜蜂、独栖蜂、双翅目、鳞翅目以及其它访花昆虫的 4988 次访花数据。研究证实, 在草甸和森林环境中除独栖蜂外, 其他所有的访花昆虫功能群均呈现出两个访花高峰的双峰活动模式。六个昆虫功能群的活动与日间环境温度的变化无显著相关性; 而昆虫的访花频率和太阳辐射显著相关。该研究首次在高海拔地区报道了访花昆虫存在的双峰的活动模式, 并发现昆虫双峰访花模式与太阳辐射相关。这种双峰的访花模式的产生可能是访花昆虫对高海拔较强的太阳辐射的响应, 中午较高的太阳辐射会急剧增加昆虫体表温度, 从而影响昆虫的访花行为。研究提出今后应该更加关注异质环境, 不同海拔梯度下植物-访花昆虫相互作用的时空动态, 以及传粉昆虫和植物开花对高海拔的生理生态适应性机制的探讨。

**关键词:** 熊蜂, 日间访花活动, 访花昆虫, 高海拔环境, 太阳辐射

\*第一作者, E-mail: xuxin@mail.kib.ac.cn

# 鸡嗉子榕小蜂表皮碳氢化合物的性二型及季节变化\*

谢 华<sup>1\*\*</sup> 刘志祥<sup>1</sup> 杨 培<sup>2</sup> 李宗波<sup>2,3\*\*\*</sup>

(1. 西南林业大学生物多样性保护学院 云南省森林灾害预警与控制重点实验室, 昆明 650224;

2. 云南中医药大学, 昆明 650500; 3. 西南山地森林资源保育与利用教育部重点实验室, 昆明 650224)

**摘要:** 表皮碳氢化合物除具有维持昆虫水分平衡的功能外, 常作为物种标识以及种内种间信息通讯与调控的媒介, 对理解昆虫化学分类、配偶识别、胚前生殖隔离及环境适应性有重要启示性。采用浸提法和气相色谱-质谱联用仪 (GS-MS) 技术, 分析寄生于鸡嗉子榕 *Ficus semicordata* 雄花期果内的 5 种榕小蜂雌、雄成虫的体表碳氢化合物的组成及共性和特性, 并对比果内优势榕小蜂表皮碳氢化合物在雨季、雾凉季和旱季间的动态变化。5 种鸡嗉子榕小蜂体表提取物由 45 种烷烃类物质组成, 包括正链烷烃、甲基烷烃、烯烃和甲基烯烃。其中, 窝榕小蜂 *Ceratosolen gravelyi* 有 21 种化合物 (雌: 16, 雄: 13)、佩妃延腹榕小蜂 *Philotrypesis dunia* 有 20 种 (雌: 15, 雄: 13), 拉长鞘榕小蜂 *Sycophaga cunia* 19 种 (雌: 13, 雄: 16), 缩腹榕小蜂 *Apocrypta* sp. 25 种 (雌: 17, 雄: 17) 和伪鞘榕小蜂 *Sycoscapter trifemmensis* 21 种 (雌: 17, 雄: 12), n-C36, n-C44, n-C34, Squalene, 2-Me-C28, n-C23, n-C40 和 17-C35:1 是各物种中表皮碳氢化合物的主要成分 (> 10%), 且不同物种、性别间的化合物种类和数量有着明显的差异。非度量多维尺度分析显示具有相似功能类群的物种, 其化合物组成在空间分布上存在部分重叠, 但各种间、种内均有显著差异 ( $R > 0, P < 0.01$ )。在季节动态方面, 从窝榕小蜂、拉长鞘榕小蜂、缩腹榕小蜂和伪鞘榕小蜂 4 种优势种的体表共鉴定出 55 种化合物, 其中雨季最多, 有 42 种; 旱季种类最少, 仅有 22 种, 但化合物的总含量与雨季相差不大, 高于雾凉季, 雨季和雾凉季具有一定的重叠, 同种榕小蜂在不同季节间化合物的组成差异显著 ( $R > 0, P < 0.01$ )。Squalene 和 2-Me-C28 两种化合物的存在与否不受物种和季节的影响, 仅含量上会有所不同, 可作为候选性信息素。5 种鸡嗉子榕小蜂表皮碳氢化合物具有强烈的物种特异性和性二型性, 且有明显的季节变化, Squalene 和 2-Me-C28 可作为榕小蜂配偶识别的化学基础, 并为解释同域种的正选型交配和合子前生殖隔离提供了支撑。

**关键词:** 鸡嗉子榕, 榕小蜂群落, 表皮碳氢化合物, 性二型, 季节变化, 配偶识别

\*基金项目: 国家自然科学基金项目(31760107, 31100279); 云南省高层次人才培养支持计划青年拔尖人才项目 (51900110)

\*\*第一作者, E-mail: hxie21527@outlook.com

\*\*\*通讯作者, E-mail: lizb@swfu.edu.cn

# 寄主营养介导柑橘木虱体色多态性研究

范家瑶 刘天远 王进军 豆威\*

(西南大学植物保护学院, 西南大学农业科学研究院, 重庆 400716)

**摘要:** 昆虫通过改变自身颜色来模拟环境进行躲藏和伪装, 或调整生理机能以适应环境变化。因此, 体色的多型性不仅丰富了昆虫的色彩, 其生态学意义更是对研究昆虫对环境的适应性、遗传多态性及其演化进程具有重要价值。柑橘木虱存在体色多型现象, 不同色型木虱在生物学特征、药剂敏感性、飞行能力以及黄龙病菌获菌量有显著差异。因此, 探索木虱体色多型性的调控机理有望对柑橘黄龙病田间防控策略的制定提供新思路。综合运用组学分析、表达模式解析、RNA 干扰等方法 and 手段开展研究。柑橘木虱在 1-4 龄若虫期腹部均为淡黄色, 5 龄若虫出现蓝绿型和灰棕型的分化。比较研究发现, 两种色型木虱颜色差异是由脂肪体细胞中的颜色所呈现, 且蓝绿型脂肪体在抗坏血酸中实现了由蓝变白的颜色转变, 蓝绿型木虱甘油三酯含量显著高于灰棕型。通过设计种群密度梯度实验和不同寄主植物营养条件发现, 在高密度或不健康寄主植物饲养条件下, 灰棕型偏多; 在低密度或健康寄主植物饲养条件下, 蓝绿型偏多。利用高通量测序和代谢物质测定分析发现, 针对柑橘木虱两种色型差异倍数较大的基因, 按功能分类主要集中在角质层结构相关的表皮蛋白、糖基水解酶、蛋白水解酶以及脂质运载相关蛋白系; 与灰棕型相比, 蓝绿型氨基酸含量显著更高, 海藻糖含量较低。比较转录组发现 1 个重要差异基因血蓝蛋白 *Hemocyanin* 在蓝绿型木虱脂肪体中高表达, 在不同寄主植物营养条件饲养下的若虫中表达量有显著差异。通过注射法 RNAi 在对 *Hemocyanin* 有效沉默后, 若虫发育迟缓, 羽化时间延后, 体色变浅; 成虫甘油三酯含量降低, 雌虫产卵量降低。柑橘木虱根据寄主植物营养状况通过调控血蓝蛋白 *hemocyanin* 的表达改变自身体色, 适应环境。

**关键词:** 柑橘木虱, 体色多型性, 血蓝蛋白, 生长发育

\*通讯作者, E-mail: douwei80@swu.edu.cn

# 桔小实蝇适应低温的生物学特性及机制探究

马云鹏 豆 威 王进军\*

(西南大学植物保护学院, 西南大学农业科学研究院, 重庆 400716)

**摘要:** 温度作为一种影响昆虫发育及繁殖的重要环境因子, 与昆虫的生命活动息息相关。桔小实蝇 *Bactrocera dorsalis* (Hendel) 作为一种具有重要经济意义的危险性果蔬害虫, 近年来, 其在我国的分布范围有向高纬度区域扩散的趋势。因此, 探究桔小实蝇低温适应的生理响应机制有望为解释桔小实蝇扩张提供有力证据。以 27.5 °C (常温) 和 20.0 °C (低温) 下实验室长期饲养的桔小实蝇为研究对象, 采用生命表法系统观察记录并分析了桔小实蝇两个温度品系的生命表参数; 比较了两个品系在极端温度下的耐受情况, 并利用酶标板法测定了抗氧化酶活性、甘油三酯、总氨基酸及糖含量等生理生化指标; 最后采用 TMT (Tandem Mass Tags) 技术对两个品系的成虫进行了蛋白组分析。与常温 (27.5 °C) 相比, 低温品系各阶段发育历期与产卵前期均显著延长, 雌雄虫寿命增加, 但卵和幼虫存活率及产卵量显著下降。温度耐受性结果表明, 与常温品系相比, -4 °C 和 0 °C 分别处理后, 低温品系存活率显著更高, 冷昏迷恢复时间更短; 40 °C 和 42 °C 分别处理后, 低温品系存活率显著下降, 热击倒时间更短。进一步生化指标分析发现, 与常温品系相比, 低温品系 CAT、POD 活性降低, 丙二醛含量下降, 但总抗氧化能力、甘油三酯与总氨基酸含量均提高。蛋白组分析共获得 627 个差异表达蛋白, 其中 307 个上调表达, 320 个下调表达, GO 和 KEGG 富集表明, 这些差异蛋白主要集中在氧化还原酶活性、辅因子、辅酶和单羧酸等代谢进程以及黑色素合成与甘油酯代谢通路。长期低温驯化导致桔小实蝇发育历期延长, 存活率下降, 产卵量降低, 同时, 低温驯化提升其对极端低温的耐受性, 但不会增强其对极端高温的耐受性, 脂肪和氨基酸可能在其中扮演着重要功能。

**关键词:** 桔小实蝇, 发育历期, 温度耐受性, 生理指标, 蛋白质组学

\*通讯作者, E-mail: wangjinjun@swu.edu.cn

## 广西桑园主要病虫害绿色防控技术研究

杨朗\* 姜建军 陈红松 潘启寿 曾宪儒 曹雪梅 黄立飞

(广西农业科学院植物保护研究所/广西作物病虫害生物学重点实验室, 南宁 530007)

**摘要:** 国家“东桑西移”战略的实施, 广西蚕桑业实现了跨越式发展, 成为广西部分地区的支柱产业, 尤其近年来广西蚕桑产业助力脱贫攻坚成效明显, 而桑树病虫害成为制约蚕桑业发展的主要原因之一, 桑树病虫害绿色防控技术是落实“公共植保、绿色植保”的重要手段, 也是落实农业部“双减”农业安全生产战略的重要举措。经过多年的努力, 通过研究组建了应用天敌友好型诱虫板、害虫性诱剂、保护天敌及释放天敌、采用桑园农药减量使用模式、应用抗病品种等农业防治技术的综合技术, 广西桑园在自然生态条件、生物多样性及产业发展等方面的优势逐步上升。基地应用综合技术的示范效果如下: 示范区主要病虫害如桑蚜、桑蓟马、桑螟、桑粉虱和白粉病的防治效果分别为 86.6%、85.1%、85.3%、83.1%、85.5%, 桑园用药亩减少 12% 以上, 桑叶亩产值增幅 5% 以上, 桑园生态系统的节肢动物多样性指数明显上升。多元化桑树主要病虫害绿色综合防控技术效果明显。

**关键词:** 桑树病虫害, 多元化, 综合防控, 效果

\*通讯作者, E-mail: yang2001lang@163.com

# 不同品种烟草对斑痣悬茧蜂生活史的影响\*

李晓红\*\* 黄志友 杨贤均

(邵阳学院城乡建设学院园林系, 邵阳 422000)

**摘要:** 植物-植食性昆虫-寄生蜂三者之间复杂的相互作用关系, 是多年来植物保护领域研究的热点问题之一, 是探寻有害昆虫可持续控制方法的重要研究领域。不同植物的防御机制千差万别, 即使是同一种植物的不同品种, 其营养含量及抗性有毒物质的类别也有较大的差异, 对植食性昆虫及其寄生蜂的影响会有所不同。本研究为探明不同品种烟草对斑痣悬茧蜂生活史的影响, 随机选取了野生种‘长花烟草’和‘八旦野生烟’, 地方品种‘梁桥晒烟’和‘双管晒烟’, 选育品种‘湘烟 5 号’和‘中烟 100’, 测试寄主斜纹夜蛾幼虫取食不同品种烟草后, 斑痣悬茧蜂的生活史参数。结果表明, 不同品种烟草对斑痣悬茧蜂的发育历期、茧重、茧历期、羽化率、寿命、后足胫节及产卵量都有显著影响。斑痣悬茧蜂的茧重、羽化率、寿命、后足胫节和产卵量, 从小到大依次为野生种<地方品种<选育品种; 发育历期和茧历期, 从小到大依次为选育品种 < 地方品种 < 野生种。研究表明野生种烟草相对选育和地方品种而言, 对斑痣悬茧蜂的生活史产生了更为不利的影响。

**关键词:** 烟草, 品种, 斑痣悬茧蜂, 生活史

\*基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目 (31800317); 邵阳市指导性科技计划项目 (2020NS124)

\*\*通讯作者, E-mail: xiaohongli86@126.com

# 利用草地贪夜蛾等寄主卵扩繁夜蛾黑卵蜂的研究进展\*

井晓宇<sup>1,2</sup> 陈万斌<sup>1</sup> 周磊<sup>1,3</sup> 王亚南<sup>1</sup> 李玉艳<sup>1</sup> 王孟卿<sup>1</sup> 张礼生<sup>1\*\*</sup>

(1. 中国农业科学院植物保护研究所, 北京 100193; 2. 吉林农业大学植物保护学院, 吉林 130000;

3. 天津农学院园林园艺学院, 天津 300392)

**摘要:** 夜蛾黑卵蜂 *Telenomus remus* (Nixon), 属膜翅目 Hymenoptera 广腹细蜂科 Platygasteridae, 是多种鳞翅目害虫的重要卵寄生性天敌之一, 特别是对当前全球暴发的草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* (Smith) 具有较好的控害效果。与其它卵寄生蜂相比, 夜蛾黑卵蜂具有较强的寄生能力, 且可有效寄生层层叠加的内层卵。雌蜂率先寄生草地贪夜蛾卵块表面卵粒, 随即用前后足清理卵块表面附着的鳞毛, 利用胸足拨动或用身体挤开卵块表面的卵粒, 再对内层卵粒进行寄生。目前饲养夜蛾黑卵蜂的技术还有诸多改进的环节, 例如替代寄主、扩繁方法、产品贮存等。在替代寄主筛选环节, 我们比较了夜蛾黑卵蜂在草地贪夜蛾、斜纹夜蛾 *Spodoptera litura*、米蛾 *Corcyra cephalonica*、麦蛾 *Sitotroga cerealella*、黏虫 *Mythimna separata*、甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 卵上的寄生能力及子代发育情况, 初步结果显示夜蛾黑卵蜂在斜纹夜蛾卵上的单雌产卵量显著高于草地贪夜蛾和其他寄主卵, 斜纹夜蛾可作为替代寄主; 国内已有的其他报道, 吴志美等研究表明: 夜蛾黑卵蜂对斜纹夜蛾的卵粒寄生率最高, 为94.48%; 其次是草地贪夜蛾 (92.11%); 对烟青虫 *Helicoverpa assulta* 和棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 的卵粒寄生率相对较低, 为34.08%和50.75%。针对当前夜蛾黑卵蜂产品生产中存在的问题, 在未来的研究中可深入替代寄主的规模化生产, 研发斜纹夜蛾自动化生产线, 研发人工饲料和寄主卵自动收集技术, 优化夜蛾黑卵蜂接蜂比例、温湿度和光周期调控工艺、提高寄生蜂产品货架期, 构建高效经济简便的人工扩繁体系。

**关键词:** 夜蛾黑卵蜂, 替代寄主, 扩繁, 生物防治, 草地贪夜蛾

\*基金项目: 中国农科院科技创新工程重大任务 (CAAS-ZDRW202108), 国家重点研发计划项目 (2019YFD1002103), 中韩国际合作项目

\*\*通讯作者, E-mail: zhangleesheng@163.com

# 蠋蝽替代猎物及人工饲料的优化研究\*

周磊<sup>1,2</sup> 李玉艳<sup>1</sup> 井晓宇<sup>1</sup> 贺玮玮<sup>1,2</sup> 张茂森<sup>1</sup> 张长华<sup>3</sup> 易忠经<sup>3</sup>  
贾芳墨<sup>3</sup> 王孟卿<sup>1</sup> 张礼生<sup>1\*\*</sup>

(1. 中国农业科学院植物保护研究所农业部作物有害生物综合治理重点实验室, 北京 100193; 2. 天津农学院园林园艺学院, 天津 300384; 3. 贵州省烟草公司遵义市公司, 遵义 563099)

**摘要:** 蠋蝽是一种优良的捕食性天敌昆虫, 对多种农林害虫具显著控制作用。大规模扩繁蠋蝽可采用替代猎物或直接用人工饲料饲养的方式实现。在蠋蝽的替代猎物筛选方面, 多项研究表明柞蚕蛹是蠋蝽室内保种及扩繁的较优猎物, 但其生产季节性强、饲养中易造成蚕蛹浪费、死亡率和自残率高等问题, 间接增加了扩繁成本。本团队前期比较了黏虫幼虫、米蛾幼虫和柞蚕蛹饲养获得蠋蝽的生长发育和繁殖力等指标, 发现黏虫的饲喂效果较佳, 可作为室内扩繁的替代猎物; 目前正在开展利用黄粉虫作为替代猎物的比较试验, 初步证实黄粉虫与黏虫饲喂效果无显著性差异, 略优于柞蚕蛹。在蠋蝽的人工饲料优化方面, 人工饲料直接扩繁天敌, 简单方便、易于操作和标准化生产, 可大大降低扩繁成本。本团队前期研发出一种无昆虫成分的人工饲料, 能连续多代饲养蠋蝽, 但连续饲养 6 代后, 若虫及成虫的发育历期和产卵前期显著延长, 自残率升高, 存活率也有所下降; 在此基础上继续优化, 创制用牛奶和鸡蛋为主要成分的新型液体人工饲料, 发现该饲料能满足生长发育的基本营养要求, 可连续饲养至少 2 代, 但存在人工饲料易变质的问题, 可能导致蠋蝽不喜取食, 影响发育; 目前正在进行的人工饲料进一步优化, 深入分析影响蠋蝽生长发育的营养成分, 优化人工饲料配方和剂型, 延长保质期, 提高饲料适口性和饲养效果, 降低生产成本, 为提高蠋蝽的产能和应用提供技术支撑。

**关键词:** 蠋蝽, 替代猎物, 人工饲料, 规模扩繁

\*基金项目: 中国烟草总公司重大专项 (201936, 201937, 201941, 110202001032 (LS-01)), 国家重点研发计划项目 (2019YFD1002103)

\*\*通讯作者: E-mail: zhangleesheng@163.com

# 捕食蝽滞育的研究进展\*

贺玮玮<sup>1,2</sup> 周磊<sup>1,2</sup> 张茂森<sup>1</sup> 李玉艳<sup>1</sup> 张礼生<sup>1\*\*</sup>

(1. 中国农业科学院植物保护研究所, 北京 100193; 2. 天津农学院园林园艺学院, 天津 300392)

**摘要:** 滞育是部分昆虫为适应不利环境的一种发育停滞现象, 常伴随形态、行为和生理上的变化。利用滞育特性可人为调控昆虫的发育进度, 对延长天敌昆虫产品的贮存期、提升应用效果具有重要意义。捕食蝽是一类重要的天敌昆虫, 在农林害虫的生物防治中防效显著, 具有重要应用价值。部分捕食蝽存在滞育现象, 已有研究表明, 大多数捕食蝽能进行兼性滞育, 滞育虫态主要为成虫或卵。盲蝽科 (Miridae) 种类多为卵滞育, 花蝽科 (Anthocoridae) 和蝽科 (Pentatomidae) 种类多为成虫滞育, 蝽类若虫滞育较少见。光周期和温度是影响捕食蝽滞育的主要环境因子, 目前的研究多为温光配合诱导捕食蝽滞育。在已研究滞育的捕食蝽中, 其光周期反应主要为短日照反应型, 这一类型的蝽多生活在温带地区, 通常短光照和低温诱导其进入滞育, 而高温和长光照促进解除滞育, 例如东亚小花蝽 *Orius sauteri* (Poppius)、狡诈小花蝽 *Orius insidiosus* (Say)、*Andrallus spinidens* (Fabricius)等; 有的种类则为长日照反应型, 一般生活在热带和亚热带地区, 如叉角厉蝽 *Eocanthecona furcellata* (Wolff), 其滞育诱导主要受长日照和高温调控, 短日照和低温打破滞育。近年来, 随着分子生物学及组学技术的发展, 滞育研究由早期的生物学、生态学、生理生化特点分析等, 深入到分子调控机理解析等方面, 包括滞育的激素调控、信号通路及生物钟基因的功能分析等, 如东亚小花蝽已有完整线粒体基因组测序。捕食蝽滞育研究的深入, 为其大规模扩繁、储存和应用提供了理论参考和技术支撑, 对提高其生物防治效能具有重要意义。

**关键词:** 捕食蝽, 滞育, 贮存期, 生物防治

\*基金项目: 中国烟草总公司重大专项 (201936, 201937, 201941, 110202001032 (LS-01)), 国家重点研发计划项目 (2019YFD1002103)

\*\*通讯作者, E-mail: zhangleesheng@163.com

# 天敌昆虫草蛉生物防治应用研究进展\*

刘小平 王亚南 李玉艳 王孟卿 张礼生 毛建军\*\*

(中国农业科学院植物保护研究所农业部作物有害生物综合治理重点实验室, 北京 100193)

**摘要:** 草蛉, 脉翅目, 草蛉科, 完全变态类昆虫, 其幼虫以及成虫具有较强的捕食能力, 且捕食范围十分广泛, 是农、林害虫的重要捕食性天敌, 在全球广泛分布。草蛉作为一种优良的生防资源昆虫, 早在 1742 年, 就在意大利用来防治温室蚜虫中取得极大的成效, 我国对草蛉的开发利用稍滞后一些, 直到 20 世纪 70 年代才开始将草蛉应用到害虫防治中, 目前, 草蛉已在欧洲、北美洲, 亚洲等很多地区得到广泛利用, 其中美国、加拿大、英国及我国等很多国家已经商业化生产草蛉。当前, 我国商业化生产的草蛉种类虽然还不多, 利用草蛉防治害虫的技术水平和推广应用力度也稍落后于寄生蜂、瓢虫和捕食螨等天敌, 但生防工作者一直致力于草蛉的应用基础研究。近年来, 围绕草蛉的规模化扩繁和释放利用技术开展了一系列研究, 包括发育营养、人工饲料研制、产品贮存和运输、田间释放及定殖技术、规模化扩繁条件和工艺革新等, 现已研发出日本通草蛉、大草蛉及丽草蛉产品 3 种, 建成草蛉中试生产线 2 条, 草蛉产品及相关技术在北京、天津、山东、贵州及云南等地的蔬菜、烟草上进行了大面积示范推广应用, 取得了显著的经济和生态效益。

**关键词:** 草蛉, 天敌昆虫, 生物防治

\*基金项目: 贵州省烟草公司项目 (201936、201937、201941), 中国烟草总公司重大专项 (110202001032 (LS-01))

\*\*通讯作者, E-mail: maojianjun0615@126.com

# 利用植保无人机开展甘蔗蓟马防控田间效果评价\*

罗志明\*\* 张荣跃 尹 炯 李银焮

(云南省农业科学院甘蔗研究所, 云南开远 661699)

**摘要:** 甘蔗蓟马 (*Baliothrips serratus* Kobus) 属缨翅目, 蓟马科, 广泛分布于我国各甘蔗种植区。该虫隐藏于未展开的甘蔗新叶内, 用锉吸式口器锉吸蔗叶并吸食汁液, 导致被害叶片呈黄白色褪绿斑痕, 严重时蔗叶卷缩萎黄, 缠绕打结, 甚至干枯死亡, 造成减产减糖。当前, 化学防治是甘蔗产区快速防控蓟马的重要措施, 筛选和评价蓟马防控有效药剂及制定其使用技术方法, 对指导蔗区蓟马防控具有重要现实意义。 试验设置 60%吡蚜.呋虫胺 WG 40 g/667m<sup>2</sup>、25%吡虫.异丙威 WP 50 g/667m<sup>2</sup>、5%啶虫脒 EC 50 mL/667m<sup>2</sup>、70%吡虫啉 WG 50 g/667m<sup>2</sup> 和 CK 共 5 个处理, 分别按 1 kg/667m<sup>2</sup>、1.5 kg/667m<sup>2</sup> 用水量, 利用植保无人机 (大疆) 进行叶面喷雾施药。连片设置, 每处理 667–1000 m<sup>2</sup> 不等, 于药后 1 d、3 d、7 d 进行防效跟踪调查, 分析评价各药剂防治效果并总结其使用技术方法。 4 种供试药剂均对甘蔗蓟马有较好防控效果, 且相同药剂处理中 1.5 kg/667m<sup>2</sup> 用水量效果明显好于 1 kg/667m<sup>2</sup> 用水量。在防控效果上, 60%吡蚜.呋虫胺 WG 40 g/667m<sup>2</sup> 效果最好, 药后 7 d 防效分别达 83%、92%; 25%吡虫.异丙威 WP 50 g/667m<sup>2</sup> 防效次之, 药后 7 d 防效达 78%、89%; 70%吡虫啉 WG 50 g/667m<sup>2</sup> 药后 7 d 防效达 76%、83%, 5%啶虫脒 EC 50 mL/667m<sup>2</sup> 药后 7 d 防效达 73%、80%。 4 种药剂均可用于甘蔗蓟马防控, 使用剂量以试验剂量为佳, 亦可根据虫情作适当增减, 同时为提高药剂的延展性和附着力, 防控时可适量添加有机硅助剂效果更佳。植保无人机已广泛应用于各种作物病虫害防控, 其用水量一般为 1 kg/667m<sup>2</sup>。由于甘蔗蓟马大多在刚抽出新叶内侧为害, 药剂吸收和接触面较小, 因此在甘蔗蓟马防控时需适当加大用水量以提高甘蔗梢头有效触药机率。

**关键词:** 植保无人机, 甘蔗蓟马, 效果评价

\*基金项目: 国家重点研发计划项目 (2020YFD1000600); 绿色食品牌打造科技支撑行动 (蔗糖产业) 专项

\*\*第一作者, E-mail: kylzm@163.com



# 黄酮、Vip3A 和甲维盐对草地贪夜蛾的联合诱导作用

皇开源<sup>1</sup> 李显春<sup>2\*</sup>

(1. 郑州大学农学院, 郑州 450001; 2. 亚利桑那大学昆虫学系, 美国亚利桑那州 85721)

**摘要:** 转基因 Bt 作物和化学杀虫剂已被广泛用于防治害虫。在利用 Bt 和杀虫剂防治害虫的同时, 植食性昆虫极有可能也摄入了(或暴露于)植物次生物质, 然而, 这三种防控因子与昆虫的互作及互作机制尚不明确。本研究以重要农作物害虫草地贪夜蛾 (*Spodoptera frugiperda*) 为研究对象, 将对 Bt 毒素 Vip3A、植物次生物质黄酮和杀虫剂甲维盐之间的相互作用进行研究, 为创制理想的转基因作物奠定理论基础。首先测定 Bt 毒素 Vip3A、植物次生物质黄酮和杀虫剂甲维盐对草地贪夜蛾初孵幼虫的毒力基线, 算出每种毒素的亚致死(LC<sub>5</sub>)和致死(LC<sub>25</sub> 和 LC<sub>50</sub>)剂量, 进一步测定它们的毒性作用之间是否具有增效、诱导或抑制作用。结果发现黄酮和甲维盐在 LC<sub>25</sub> 剂量下对 Vip3A 的毒性均有显著的协同作用, Vip3A、黄酮和甲维盐在 LC<sub>15</sub> 剂量下的联合毒性明显高于预期的加性毒性。用 LC<sub>5</sub> 亚致死剂量的黄酮提前 24 h 处理初孵幼虫后用 LC<sub>5</sub> 亚致死剂量的黄酮和 LC<sub>50</sub> 致死剂量 vip3A 处理, 其死亡率显著高于单独用 LC<sub>50</sub> Vip3A 处理的死亡率。相反地, LC<sub>5</sub> 亚致死剂量提前 24 h 处理初孵幼虫后用 LC<sub>5</sub> 亚致死剂量的黄酮和 LC<sub>50</sub> 致死剂量甲维盐处理, 其死亡率显著低于单独用 LC<sub>50</sub> 甲维盐处理的死亡率。研究表明, 甲维盐和黄酮与 Vip3A 都具有协同作用, 黄酮对 Vip3A 具有诱导作用, 相反黄酮对甲维盐具有拮抗作用。以上研究结果有助于理解植物次生物质、Bt 毒素和杀虫剂等多种防控因子与昆虫的相互作用。

**关键词:** 植物次生物质, Bt 毒素, 化学杀虫剂, 联合毒性, 诱导毒性, 相互作用

\*通讯作者

# 靶向蚜虫 dsRNA 对龟纹瓢虫的安全性评估

王自国<sup>1,2</sup> 谢秀成<sup>1,2</sup> 杨莉<sup>1,2</sup> 牛金志<sup>1,2</sup> 王进军<sup>1,2\*</sup>

(1. 西南大学植物保护学院, 2. 西南大学农业科学研究院, 重庆 400716)

**摘要:** 蚜虫作为典型的 r-对策型昆虫, 其个体小, 繁殖能力强, 抗性发展迅速, 已经成为世界上重要的农业害虫。新兴的 RNA 干扰技术由于高特异性、易降解等特点, 被认为是一种极具潜力的蚜虫防治手段, 但 RNA 干扰技术受到干扰效率不足、递送效率低、脱靶效应等因素的影响, 极大地限制了 RNA 干扰技术在蚜虫防治中的应用。龟纹瓢虫作为优秀的蚜虫天敌, 被广泛应用于蚜虫的生物防控。然而, 脱靶效应的存在使得 RNA 干扰对天敌龟纹瓢虫的安全性不明确, 从而增加 RNAi 应用的环境风险。因此, 针对靶向蚜虫的 dsRNA 对天敌龟纹瓢虫的安全性评估显得尤为迫切和重要。(1) 采用第三代 *pacbio* 测序技术测定龟纹瓢虫全长转录组。(2) 显微注射和饲喂方法测定不同龄期龟纹瓢虫的 dsRNA 敏感性。(3) 利用 q-PCR 检测方法检测龟纹瓢虫的指示基因与脱靶基因沉默效率。本研究利用第三代测序技术得到一个相对完整的龟纹瓢虫全长转录组数据库, 通过给不同龄期的龟纹瓢虫注射和饲喂指示基因 *dsIAP*, *dsV-ATP*, 和 *dsCHMP-4b* 确定龟纹瓢虫安全性评估的最佳龄期和最适合浓度分别为 1N 和 2000 ng/ $\mu$ L ( $\gg$ LC90)。最后, 我们选取豌豆蚜基因中的与龟纹瓢虫高相似的一条 *actin* 基因, 从理论上设计出对龟纹瓢虫安全的 dsRNA 片段 *dsPj-safety fragment (dsPjSF)* 与龟纹瓢虫重度和中度脱靶的 dsRNA 片段 *dsPj-unsafety fragment 1 (dsPjUF1)* 与 *dsPj-unsafety fragment 2 (dsPjUF2)*, 饲喂实验结果表明, *dsPjUF1* 和 *dsPjUF2* 会对瓢虫的基因产生脱靶引起龟纹瓢虫的相关基因的表达量下降, 而 *dsPjSF* 不会引起龟纹瓢虫相关基因的沉默效率。实验结果表明, 我们建立起一个相对完整的天敌龟纹瓢虫对 RNA 干扰的安全评估方法, 并且通过科学的设计 dsRNA 片段可以有效的避免 dsRNA 的脱靶效应, 这为 RNAi 应用的环境安全性评估提供的重要的理论支持。

**关键词:** 蚜虫, RNA 干扰, 天敌, 脱靶, 安全性评估

\*通讯作者, E-mail: wangjinjun@swu.edu.cn

# 东亚小花蝽三种防御性内源物质对大豆蚜和异色瓢虫的刺激响应

许玲 韩岚岚 傲楠 刘子琦 张嘉博

(东北农业大学, 哈尔滨 150030)

**摘要:** 自然天敌在蔬菜、林业, 花卉以及农田生态系统的害虫防控体系中发挥着重要功能, 明确“天敌-害虫”以及“天敌-害虫-天敌”相互作用对天敌的影响有助于加深对天敌防控机制的了解进而充分发挥天敌的控制作用。本文基于酶联免疫分析法, 以东亚小花蝽为研究对象, 检测东亚小花蝽在受到猎物大豆蚜影响及受到猎物大豆蚜、竞争者异色瓢虫共同影响下体内 Hsp70 蛋白表达量、海藻糖合酶、羧酸酯酶活性变化。各处理间东亚小花蝽体内 Hsp70 蛋白表达量、海藻糖合酶、羧酸酯酶活性均在短时间内呈现出差异, 异色瓢虫—小花蝽处理组三种物质的含量或活性均高于其他处理组, Hsp70 蛋白表达量达到 25.7975 pg/per, 海藻糖合酶活性 0.0179 U/per, 羧酸酯酶活性 0.0223 U/per; 东亚小花蝽在仅受大豆蚜刺激时各处理间三种物质的含量或活性较受大豆蚜和异色瓢虫共同刺激差异更为显著。在较短时间内东亚小花蝽对竞争对手异色瓢虫的刺激响应比猎物大豆蚜更为激烈, 在进行生物防治天敌引进时需考虑两种甚至多种天敌间的相互影响。

**关键词:** 东亚小花蝽, 大豆蚜, 异色瓢虫, 内源物质

# 甘蔗蓟马人工饲养技术研究\*

尹炯\*\* 罗志明 李银焮 王晓燕 张荣跃 单红丽 李婕  
王长秘 黄应昆

(云南省农业科学院甘蔗研究所, 云南开远 661699)

**摘要:** 甘蔗作为食糖的主要来源, 是世界上最重要的经济作物之一。甘蔗蓟马 *Fulmekiola serrata* Kobus, 别名蔗褐蓟马, 属缨翅目, 蓟马科, 是一种为害甘蔗的重要叶部害虫。为便于规模化饲养甘蔗蓟马, 探究甘蔗离体叶片饲养甘蔗蓟马的技术方法, 以利于更好地开展甘蔗蓟马生物学、生态学研究, 以期为该虫的综合防治研究提供技术支撑。田间采集甘蔗离体新叶、甘蔗离体展开叶和甘蔗离体老叶, 分别添加清水、红糖水和白糖水, 在自制饲养盒中饲养甘蔗蓟马, 置于人工气候培养箱中, 比较观察记录甘蔗蓟马发育和存活情况。采用甘蔗离体新叶添加清水饲养甘蔗蓟马, 其发育和存活参数最高, 饲养效果最好。采用甘蔗离体新叶添加清水可用于室内甘蔗蓟马种群的建立和繁殖, 为综合防治技术的研究提供大量虫源。

**关键词:** 甘蔗, 甘蔗蓟马, 离体叶片, 人工饲养

\*基金项目: 云南省重点领域科技专项 (202102AE090028); “绿色食品品牌”打造科技支撑行动 (蔗糖产业) 专项; 国家现代农业产业技术体系 (糖料) 建设专项资金 (CARS-170303); 云岭产业技术领军人才培养项目 (2018LJRC56); 云南省现代农业产业技术体系建设专项资金

\*\*第一作者, E-mail: yinjiong@126.com

# 麦蛾茧蜂防治粉斑螟的防控潜力评价

何梦婷 郭超\* 王智颖 劳传忠 李丹青 朱雅宾

(广东省粮食科学研究所粮食储藏与害虫防治研究室, 广州 510050)

**摘要:** 为了获得生物防治效果专一且控制效果好的天敌昆虫麦蛾茧蜂, 研究了温度为 30℃、RH75% 的实验条件下, 以粉斑螟为自然寄主连续饲养的 1 世代, 第 20 世代、40 世代、60 世代、80 世代的麦蛾茧蜂对末龄粉斑螟幼虫的功能反应模型, 评估了人工连续繁育多代后麦蛾茧蜂扩散能力和寄生能力; 评估了实际楼层中麦蛾茧蜂对粉斑螟幼虫的实际控制能力和持续防治潜能。结果表明, 不同世代的麦蛾茧蜂对末龄粉斑螟幼虫的功能反应符合 Holling II 模型, 对粉斑螟的麻痹能力存在显著差异。实际的水平楼层试验表明, 一个释放点的麦蛾茧蜂能够在 3 d 内控制 1 500 m<sup>3</sup> (长为 39.5 m、宽为 14.7 m、高 2.7 m) 空间内的 720 头粉斑螟幼虫。在垂直楼层试验中, 以释放点为基准线 0 m, 麦蛾茧蜂的控制范围为-10.5-7 m。研究结果证明, 麦蛾茧蜂对粉斑螟的防控潜力大, 在食品加工场所和仓储环境的绿色防控中具有良好的开发利用前景。

**关键词:** 麦蛾茧蜂, 功能反应, 粉斑螟, 防控能力

\*通讯作者

# 中华卵索线虫体内培养技术的研究\*

黎彩霞 徐慧敏 熊进峰 王国秀\*\*

(华中师范大学生命科学学院遗传调控与整合生物学湖北省重点实验室, 武汉 430079)

**摘要:** 中华卵索线虫 (*Ovomermis sinensis*) 为我国特有的昆虫病原索科线虫, 可寄生于多种鳞翅目害虫体内, 如斜纹夜蛾 (*Spodoptera litura*)、甜菜夜蛾 (*Spodoptera exigua*) 等, 生物防治潜力极大。但目前其体外培养尚未获成功, 为探索体内大量繁殖中华卵索线虫, 本研究以棉铃虫 (*Helicoverpa armigera*)、斜纹夜蛾和东方粘虫 (*Mythimna separata*) 为试验对象, 采用不同的感染比例 (宿主 : 线虫 = 1 : 5、1 : 10、1 : 15、1 : 20、1 : 25、1 : 30、1 : 40) 进行感染实验, 统计从宿主体内脱出线虫的雌、雄比例及虫体的大小, 以期探索出线虫的最佳繁殖方案。结果显示, 在感染强度为 5 的实验组中, 3 种宿主体内脱出的均为雌线虫。当感染强度从 10 增到 40 时, 斜纹夜蛾脱出的雌线虫比例由 100% 降到 0%; 棉铃虫脱出的雌线虫比例由  $(90 \pm 2.18) \%$  降到 0%; 东方粘虫脱出的雌线虫比例由  $(93.846 \pm 2.46) \%$  降到 0%。同时, 斜纹夜蛾、棉铃虫、东方粘虫所脱出雌虫的平均体长分别为  $(14.784 \pm 0.482) \text{ cm}$ 、 $(13.805 \pm 0.429) \text{ cm}$ 、 $(12.751 \pm 0.707) \text{ cm}$ ; 雄虫平均体长分别为  $(8.032 \pm 0.219) \text{ cm}$ 、 $(7.511 \pm 0.206) \text{ cm}$ 、 $(7.458 \pm 0.287) \text{ cm}$ 。由此可见, 在相同的感染强度下, 斜纹夜蛾所脱出的雌虫比例显著高于棉铃虫 ( $P < 0.05$ ) 与东方粘虫 ( $P < 0.0001$ ), 且当感染强度为 20~25 时, 斜纹夜蛾脱出的雌雄比 (雌性 : 雄性) 约为 1 : 1~2; 而棉铃虫和东方粘虫在感染强度为 15 时, 脱出的线虫雌雄比 (雌性 : 雄性) 分别为 1 : 1 和 1 : 2。由此可见, 在实验室扩大繁殖该线虫时, 可采用斜纹夜蛾作为宿主, 以 20~25 的感染比例进行感染; 若实验室需要大量雌线虫, 则可选择斜纹夜蛾作为宿主, 若需要大量雄线虫, 则可选择东方粘虫作为宿主。可使该线虫在原数目的基础上, 进一步有效地扩增其种群规模和合适的雌、雄线虫性比 (1 : 1~2), 为该线虫实验室的大规模繁衍及后续相关田间应用等研究的顺利进行奠定基础。

**关键词:** 昆虫病原索科线虫, 中华卵索线虫, 性比, 棉铃虫, 斜纹夜蛾, 东方粘虫

\*基金项目: 国家自然科学基金 (31572279)

\*\*通讯作者, E-mail: wanggx@mail.ccnu.edu.cn

## 亚致死浓度氟啶虫胺胍对茶翅蝽生长繁殖和解毒酶的影响

王泽华 杨帆 孙昂 王山宁\*

(北京市农林科学院植物保护研究所, 北京 100097)

**摘要:** 为了研究氟啶虫胺胍亚致死剂量对茶翅蝽生长发育和繁殖的影响, 并明确该虫体内的解毒酶在亚致死浓度药剂下的响应, 为茶翅蝽的田间防控提供科学依据。氟啶虫胺胍对茶翅蝽 2 龄若虫的亚致死剂量采用浸渍法确定。采用建立生命表的方法评估氟啶虫胺胍亚致死剂量  $LC_{20}$  对茶翅蝽生长发育和繁殖的影响。用  $LC_{20}$  处理过的四季豆饲喂 2 龄若虫 48 小时, 比较若虫体内谷胱甘肽转移酶、多功能氧化酶 P450 和羧酸酯酶的活力变化。根据室内生物测定结果, 氟啶虫胺胍对茶翅蝽 2 龄若虫 48 h 的  $LC_{20}$  为 7.75 mg/L。与对照相比, 在亚致死剂量下茶翅蝽从 2 龄发育到成虫的时间延长了 2.29 天, 差异显著 ( $P < 0.05$ ); 其中 2 龄发育历期为 10.83 天, 与对照相比明显延长 ( $P < 0.05$ ); 3 龄、4 龄和 5 龄若虫发育历期没有显著差异; 雌成虫寿命从 43.52 天显著缩短到 32.92 天, 单雌产卵量从 99.03 粒下降到 88.15 粒, 而雄成虫寿命和羽化率没有明显变化。酶活力测定结果发现, 经氟啶虫胺胍  $LC_{20}$  剂量处理后, 谷胱甘肽转移酶和羧酸酯酶活力分别为 267.4 和 0.69 U/mg prot, 显著高于对照组 ( $P < 0.05$ )。  $LC_{20}$  剂量的氟啶虫胺胍会抑制茶翅蝽生长发育和繁殖, 并可明显诱导茶翅蝽体内的谷胱甘肽转移酶和羧酸酯酶活性上升。

**关键词:** 亚致死效应, 杀虫剂, 酶活力

\*通讯作者

# 转录组测序分析氯虫苯甲酰胺对草地贪夜蛾的亚致死效应\*

徐鹿<sup>1\*\*</sup> 赵钧<sup>2</sup> 徐德进<sup>1</sup> 徐广春<sup>1</sup> 顾中言<sup>1</sup> 张亚楠<sup>3</sup> 朱芳芳<sup>4</sup>

(1. 江苏省农业科学院植物保护研究所, 南京 210014; 2. 河南省农业科学院烟草研究所, 许昌 461000; 3. 淮北师范大学生命科学学院, 淮北 235000; 4. 南京集思慧远生物科技有限公司, 南京 210023)

**摘要:** 草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) 是原产美洲的世界性预警的重大农业迁飞害虫, 已侵入定殖中国。氯虫苯甲酰胺作为推荐控制草地贪夜蛾危害的高效杀虫剂, 其对草地贪夜蛾亚致死效应不清楚。采用饲料表面涂药法测定氯虫苯甲酰胺对草地贪夜蛾致死和亚致死浓度, 通过构建测序文库进行比较转录组分析草地贪夜蛾响应氯虫苯甲酰胺暴露的差异基因和通路, 选择草地贪夜蛾响应氯虫苯甲酰胺的解毒相关基因进行实时荧光定量 PCR 验证。氯虫苯甲酰胺对草地贪夜蛾的致死中浓度  $LC_{50}$  和亚致死浓度  $LC_{10}$  分别为 2.49 mg/L 和 0.73 mg/L; Illumina nova-seq 6000 平台测序获得高质量和大数据量的草地贪夜蛾转录组, 且覆盖完整的基因序列信息; 比较转录组获得去离子水和氯虫苯甲酰胺亚致死浓度  $LC_{10}$  之间 1266 个差异表达基因, 其中 578 个上调表达, 688 个下调表达, 显著地参与碳水化合物代谢、氨基酸代谢、脂质代谢、能量代谢、外源物降解与代谢、信号转导和转录后修饰通路; 实时荧光定量 PCR 证实差异显著的解毒相关基因的表达量与转录组测序数据高度匹配。比较转录组分析结果揭示了氯虫苯甲酰胺对草地贪夜蛾亚致死效应的分子机制, 同时转录组测序为草地贪夜蛾对氯虫苯甲酰胺抗性研究提供了候选的解毒相关基因。

**关键词:** 草地贪夜蛾, 氯虫苯甲酰胺, 转录组, 亚致死浓度, 基因表达

\*基金项目: 国家自然科学基金 (31972309); 国家重点研发计划 (2017YFD0200305); 江苏省自然科学基金面上项目 (BK20191204); 国家水稻产业技术体系项目 (CARS-01-37)

\*\*第一作者, E-mail: xulupesticide@163.com

# 保幼激素介导的利巴韦林对斜纹夜蛾的毒力机制

李冬植<sup>1</sup> 何承帅<sup>1</sup> 刘红宇<sup>1</sup> 汪梅子<sup>2</sup> 刘润强<sup>1</sup> 徐莉<sup>1\*</sup>

(1. 河南科技学院 资源与环境学院, 河南新乡 453003;

2. 河南农业大学 植物保护学院, 河南郑州 450002)

**摘要:** 利巴韦林是一种 1,2,4-三氮唑类衍生物的抗病毒医药, 课题组前期研究发现其对重要农业害虫斜纹夜蛾抗拟除虫菊酯和有机磷种群(简称抗性种群)和敏感种群均有较高的毒力, 其作用方式类似于昆虫生长调节剂, 且明显影响幼虫的正常蜕皮, 具有开发为杀虫剂的潜力, 本研究探索了利巴韦林对斜纹夜蛾的毒力机制。采用饲料混药法测定了利巴韦林对斜纹夜蛾的毒力和作用方式, 采用 RNA-Seq 测定了利巴韦林可能影响斜纹夜蛾的代谢通路, 采用组织切片、qRT-PCR 和 ELISA 测定了利巴韦林对斜纹夜蛾皮肤的损伤、表皮形成相关基因表达量的分析和幼虫保幼激素 (JH)、蜕皮激素 (20E) 含量的影响。抗性种群和敏感种群三龄幼虫取食含利巴韦林饲料 4、5 天后 LC<sub>50</sub> 分别为 27.5、19.2 mg/kg 和 28.1、20.7 mg/kg。利巴韦林对斜纹夜蛾三龄幼虫有高的胃毒毒力, 而触杀毒力弱。RNA-Seq 结果表明取食含 10 和 20 ppm 利巴韦林后, 显著下调的基因富集在萜骨架合成通路 (Terpenoid backbone biosynthesis) 和表皮的结构组成 (structural constituent of cuticle), 且中毒幼虫出现表皮黑化、水肿、不能正常蜕皮等现象, 最终死亡。选取并测定了鞣化激素、表皮蛋白基因、JH 合成、20E 合成、黑化激素合成、几丁质合成等相关途径基因, 发现利巴韦林 10、20、40 ppm 处理后显著抑制了 JH 合成途径关键基因 CYP15C1 和保幼激素酸甲基转移酶的表达, 且抑制了多数表皮蛋白基因的表达, 而其他途径的基因均呈现上调或无显著差异。这支持了组织切片中利巴韦林处理后幼虫新形成表皮层薄的现象。ELISA 结果表明利巴韦林 10、20、40 ppm 处理后斜纹夜蛾幼虫 JH 含量较对照显著降低, 而 20E 的含量无明显变化。利巴韦林可能通过抑制斜纹夜蛾 JH 和表皮蛋白的合成而扰乱幼虫的蜕皮, 研究结果有助于以 JH 为靶标的绿色新农药创制, 为 1,2,4-三氮唑类衍生物杀虫剂的开发提供理论依据。

**关键词:** 斜纹夜蛾, 利巴韦林, 毒力机制, 保幼激素, 表皮蛋白

\*通讯作者, E-mail: xuli-apple-love@163.com

# 小菜蛾中肠 Bt 抗性相关 miRNA 的鉴定与分析\*

杨 婕 徐雪娇 尤民生\*\* 谢 苗\*\*

(福建农林大学应用生态研究所, 福州 350002)

**摘要:** 小菜蛾 *Plutella xylostella* (L.) 属鳞翅目 Lepidoptera, 菜蛾科 Plutellidae, 是十字花科最主要的害虫之一。目前已知小菜蛾已对包括苏云金芽孢杆菌 (*Bacillus thuringiensis*, Bt) 在内的多种杀虫剂产生了抗药性, 其突出的抗药性问题已成为害虫防治的主要障碍。MicroRNA (miRNA) 作为生物体内重要的转录后调控因子, 可以通过调节杀虫剂靶标基因或相关解毒酶基因的表达来增强或形成杀虫剂抗性。本研究利用 Small RNA 测序对 Bt 抗性品系 (Cry1S1000) 和敏感品系 (G88) 的小菜蛾中肠 miRNAs 进行鉴定, 并筛选出品系间差异表达 miRNAs, 为进一步探究小菜蛾 Bt 抗性形成的机制提供新靶标和新思路。通过 Small RNA 测序, 共鉴定出了 437 个 miRNAs (76 个已知 miRNAs 和 361 个新 miRNAs), 基于其序列相似性, 其中 178 个 miRNAs 被分类至 91 个 miRNA 家族中; 利用 DESeq2 软件在 Cry1S1000 抗性品系和 G88 敏感品系中筛选出 12 个差异表达的 miRNAs, 并利用 miRanda 和 TargetScan 预测其靶标基因; GO 和 KEGG 通路分析表明这些差异表达 miRNAs 的 44 个靶标基因主要富集在细胞过程、代谢过程和催化活性等, 也有基因参与了 MAPK 信号通路和 Hippo 信号通路; 利用 RT-qPCR 分别检测了 12 个差异表达的 miRNAs 和其靶标基因在 Cry1S1000 抗性品系和 G88 敏感品系小菜蛾中肠中的表达量, 结果表明共 5 个 miRNAs (novel-miR-210, novel-miR-274, novel-miR-288, novel-miR-25 和 pxy-miR-8522) 在 Cry1S1000 品系中的表达量显著高于 G88 品系, 而 3 个 miRNAs (novel-miR-240, novel-miR-270 和 novel-miR-116) 在 Cry1S1000 品系中的表达量则显著低于 G88 品系; 其中, 只有 novel-miR-274 和 novel-miR-240 与其靶标基因 *Px001355*, *Px002066* 和 *Px008303*, *Px017590* 和 *Px007885* 的表达量呈现负相关的趋势; 利用双荧光素酶报告系统验证了 novel-miR-240 可以和 *Px017590* 和 *Px007885* 的编码区 (coding sequence, CDS) 结合并显著抑制荧光素酶的表达。本研究鉴定分析了 Bt 抗性和敏感品系的小菜蛾中肠 miRNAs, 筛选出差异表达 miRNAs, 为进一步探索小菜蛾 miRNA 介导 Bt 抗性的分子机理奠定基础。

**关键词:** miRNA, Bt 抗性, 小菜蛾, 中肠

\*基金项目: 国家自然科学基金 (31701796); 福建省自然科学基金 (2018J01618)

\*\*通讯作者, E-mail: msyou@fafu.edu.cn, xmshelly@163.com

# Bt 毒蛋白 Cry1Ac 和植物次生物质花椒毒素的联合/诱导作用的类型及其机制

任雨冬 邓中原 陈雪维 李显春

(1. 郑州大学农学院, 郑州 450001; 2. 亚利桑那大学昆虫学系, 美国亚利桑那州 85721)

**摘要:** 转 Bt 基因抗虫棉的大面积种植, 有效地减少了化学农药的使用。棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Hübner) 是一种世界范围内多食性的农业害虫, 当棉铃虫同时摄入防御性的植物次生物质 (anti-herbivore allelochemicals) 和苏云金芽孢杆菌 (*Bacillus thuringiensis*, Bt) 毒素蛋白, 幼虫在半致死和亚致死剂量下如何相互作用以及其作用机制尚待研究。本研究以棉铃虫幼虫为实验材料, 首先测定 Bt 毒素 Cry1Ac 及植物次生物质花椒毒素的毒力基线, 计算出每种毒素的亚致死 (LC<sub>5</sub> 和 LC<sub>25</sub>) 和半致死 (LC<sub>50</sub>) 剂量。进一步研究了在棉铃虫同时或依次摄入 Bt 毒素 Cry1Ac 与植物次生物质花椒毒素两种毒素后, 两种毒素之间的联合/诱导杀虫作用。同时用 LC<sub>25</sub> 亚致死剂量的 Cry1Ac 和花椒毒素处理棉铃虫初孵幼虫, 其死亡率显著高于单一毒素处理及其预期的相加死亡率。提前用 LC<sub>5</sub> 亚致死剂量的花椒毒素处理初孵幼虫 24 h 后, 用 LC<sub>5</sub> 剂量的花椒毒素和 LC<sub>50</sub> 剂量的 Cry1Ac 处理, 其死亡率显著高于单用 LC<sub>50</sub> 的 Cry1Ac 或 LC<sub>5</sub> 的花椒毒素加上 LC<sub>50</sub> 的 Cry1Ac 处理的预期相加死亡率。相反地, 提前用 LC<sub>5</sub> 亚致死剂量的 Cry1Ac 处理初孵幼虫 24 h 后, 用 LC<sub>5</sub> 剂量的 Cry1Ac 和 LC<sub>50</sub> 剂量的花椒毒素处理, 其死亡率与 Cry1Ac 的 LC<sub>5</sub> 剂量加花椒毒素的 LC<sub>50</sub> 剂量的预期相加死亡率无显著差异。研究结果表明, 花椒毒素和 Cry1Ac 两种毒素对棉铃虫的杀虫效果具有联合作用, 花椒毒素对 Cry1Ac 具有诱导作用, Cry1Ac 可能对花椒毒素不具诱导作用。

**关键词:** 棉铃虫, Cry1Ac, 花椒毒素, 联合毒性, 诱导毒性

# 黄酮对棉铃虫解毒代谢酶的诱导及其调控机制

张瑜婷<sup>1</sup> 邓中原<sup>1</sup> 陈雪维<sup>1</sup> 李显春<sup>2</sup>

(1. 郑州大学农学院, 郑州 450001; 2. 亚利桑那大学昆虫学系, 美国亚利桑那州 85721)

**摘要:** 植食性昆虫与植物长期协同进化中, 植物和昆虫都进化出了一系列防御和反防御机制, 如植物产生植物次生物质抵御昆虫取食, 相应的昆虫通过增强解毒代谢能力、行为趋避等方式来适应寄主植物。然而, 植食性昆虫与植物次生物质的互作及互作机制尚不明确。本研究将系统地挖掘棉铃虫中与黄酮相关的解毒代谢基因及其转录调控机制。首先通过生物测定探讨不同浓度 (0.01%、0.1% 和 1%) 的黄酮对棉铃虫生长发育的影响。利用转录组分析 0.1% 黄酮处理的 6 龄棉铃虫幼虫的中肠组织与对照组相比的差异表达基因。进一步对上调表达基因的启动子活性进行测定, 并分析了羧酸酯酶基因 *CCE001j* 顺式转录调控元件的功能。随着黄酮浓度的增加, 棉铃虫粪便量减少, 棉铃虫生长发育减慢。转录组分析共鉴定出 48 个差异表达基因, 其中 38 个基因上调表达, 10 个基因下调表达。富集分析表明, 差异表达基因主要集中在解毒代谢相关途径。在羧酸酯酶基因 *CCE001j* 启动子序列中预测到了 Motif1、Motif2、ARE1 和 ARE2 四个调控元件, 结果表明仅有 ARE1 元件的缺失影响了受黄酮诱导的启动子活性, 使启动子诱导活性由对照的  $26.69 \pm 2.40$  降低到了  $13.21 \pm 1.74$  ( $P = 0.003$ )。研究结果表明高剂量的黄酮会抑制棉铃虫的取食和生长发育。棉铃虫可能通过细胞色素 P450s、羧酸酯酶等基因的上调表达从而增强对黄酮的解毒代谢, 其中 ARE1 元件在黄酮诱导基因 *CCE001j* 的顺式转录调控中发挥着重要作用。本研究对深入了解植食性昆虫与植物协同互作具有重要的意义, 有利于揭示昆虫寄主适应性机制。

**关键词:** 棉铃虫, 黄酮, 解毒代谢, 羧酸酯酶, 顺式转录调控

# 吡虫啉和噻虫嗪对大豆蚜种群发育和繁殖的影响

张傲楠\* 韩岚岚\*\* 赵奎军 冯敏 窦楠 林志颖

(东北农业大学农学院, 哈尔滨 150030)

**摘要:** 本研究旨在探索大豆蚜对半致死浓度 ( $LC_{50}$ ) 和低致死浓度 ( $LC_{30}$ ) 的吡虫啉或噻虫嗪的适应性, 掌握吡虫啉和噻虫嗪对大豆蚜种群发育和繁殖的影响, 从而指导田间精准施药, 为保护生态, 推动可持续农业发展提供新思路。采用浸渍法, 将大豆叶片浸渍于  $LC_{50}$  和  $LC_{30}$  的吡虫啉或噻虫嗪药液中 10 秒后取出, 自然晾干后用于饲喂大豆蚜, 24 小时后更换新鲜无药剂的大豆叶片继续饲喂并监测大豆蚜实验种群的生长发育特性和繁殖力变化趋势, 组建种群生命表。与对照相比,  $LC_{50}$  吡虫啉和噻虫嗪的处理显著延长了大豆蚜的平均世代时间, 成蚜产蚜前期和总产蚜前期。同时, 其显著降低了每只成蚜的平均繁殖力, 而  $LC_{30}$  吡虫啉和噻虫嗪的处理显著缩短了大豆蚜的成蚜产蚜前期 ( $P < 0.05$ )。此外, 与对照组相比,  $LC_{30}$  吡虫啉和噻虫嗪处理组的大豆蚜的繁殖高峰出现得较早, 而在  $LC_{50}$  吡虫啉和噻虫嗪处理大豆蚜的繁殖高峰出现得较晚。其中  $LC_{30}$  吡虫啉处理组大豆蚜的繁殖高峰较对照提前 1 天,  $LC_{30}$  噻虫嗪处理组大豆蚜的繁殖高峰较对照提前 2 天;  $LC_{50}$  吡虫啉处理组大豆蚜的繁殖高峰较对照延后 2 天,  $LC_{50}$  噻虫嗪处理组大豆蚜的繁殖高峰较对照延后 1 天。 $LC_{50}$  和  $LC_{30}$  的吡虫啉和噻虫嗪均可降低大豆蚜种群的生物学适应度。药剂处理后, 大豆蚜种群的成蚜平均繁殖力, 净增殖率, 内禀增长率和周限增长率均显著低于对照组的相应参数。不同浓度吡虫啉或噻虫嗪对大豆蚜种群发育和繁殖的影响存在差异。在实际生产中, 我们应认识到低致死浓度杀虫剂刺激昆虫繁殖的潜力。

**关键词:** 新烟碱类杀虫剂, 低致死效应, 生命表, 存活率, 种群

\*第一作者, E-mail: 2263880800@qq.com

\*\*通讯作者, E-mail: hanll\_neau@aliyun.com

# 桔小实蝇 *UGT301D2/UGT429A1* 在马拉硫磷抗性中的功能

陈梦玲<sup>1,2</sup> 袁国瑞<sup>1,2</sup> 张树霞<sup>1</sup> 蒙力维<sup>1,2</sup> 王进军<sup>1,2\*</sup>

(1. 西南大学植物保护学院, 重庆 400716; 2 西南大学农业科学研究院, 重庆 400716)

**摘要:** 桔小实蝇 *Bactrocera dorsalis* 是重要的农业害虫, 属于世界级检疫性害虫, 是我国的外来入侵物种, 寄主及分布范围广泛。目前对其的防治仍以化学防治为主, 有机磷类农药长期大量不合理使用导致桔小实蝇产生了较高度度的抗药性, 多个地区桔小实蝇种群对有机磷类杀虫剂的抗性水平呈逐年上升的趋势。尿苷二磷酸葡萄糖基转移酶 (UDP-glycosyltransferase, UGTs) 是一类可以代谢昆虫的内生性物质和植物次生代谢物及有机合成农药等的外源性物质的次级解毒代谢酶, 参与昆虫重要的解毒代谢生理过程, 在昆虫的生物转化中起着至关重要的作用。通过挖掘桔小实蝇基因组数据对 UGTs 进行全基因组鉴定, 利用 qRT-PCR 及 Western Blot 技术分析桔小实蝇马拉硫磷抗、敏品系差异 UGTs 基因, 解析其在抗性品系的时空表达模式; 利用免疫组化技术对差异基因进行解毒代谢组织的定位分析; 综合 RNAi、三维结构模拟、分子对接、异源表达、HPLC 技术探究 *BdUGT301D2/BdUGT429A1* 参与桔小实蝇对马拉硫磷的代谢。共鉴定到 33 个 UGTs 基因, 其中 *BdUGT301D2/BdUGT429A1* 在抗性品系中 mRNA 表达量是敏感品系的 2.065、4.859 倍。2 条基因在中肠、马氏管表达量上调, 免疫组化实验结果表明 2 条基因在中肠、马氏管细胞器膜特异表达。分别有效沉默 2 条基因的抗性品系试虫对马拉硫磷敏感性分别上升 20.77% 和 18.54%。HPLC 检测结果表明 2 个重组蛋白对马拉硫磷的代谢率分别为 25.08% 和 13.06%。抗性品系特异性上调的 *BdUGT301D2/BdUGT429A1* 可能通过解毒代谢介导桔小实蝇对马拉硫磷的抗性。

**关键词:** 桔小实蝇, 尿苷二磷酸葡萄糖基转移酶, 马拉硫磷, 代谢抗性, RNAi, HPLC

\*通讯作者, E-mail: wangjinjun@swu.edu.cn

# 柑桔全爪螨田间种群对阿维菌素的抗性遗传及交互抗性

刘巽燕<sup>1,2</sup> 袁国瑞<sup>1,2</sup> 王进军<sup>1,2\*</sup>

(1. 西南大学植物保护学院, 重庆 400716; 2. 西南大学农业科学研究院, 重庆 400716)

**摘要:** 柑桔全爪螨是一种世界性分布的多食性害螨, 可危害柑桔类果树、大豆、番茄等 100 多种寄主。阿维菌素具有广谱、高效和低残留等特点, 是害虫(螨)防治中常用的一类生物源农药。了解柑桔全爪螨田间抗性发展速度和水平, 研究其对阿维菌素抗性的遗传形式及交互抗性, 为田间科学用药及抗性治理提供依据。(1)抗性遗传形式的研究。柑桔全爪螨田间抗性品系与敏感品系杂交和回交实验设计如下: 抗性母本( $AbR_{\text{♀}}$ ) × 敏感父本( $SS_{\text{♂}}$ ) 为正交, 敏感母本( $SS_{\text{♀}}$ ) × 抗性父本( $AbR_{\text{♂}}$ ) 为反交。分别对亲本( $AbR$ ,  $SS$ )、杂交  $F_1$  代( $F_1RS$ ,  $F_1SR$ )、回交  $F_2$  代( $BC_1$ :  $F_1RS_{\text{♀}} \times AbR_{\text{♂}}$ ,  $BC_1'$ :  $F_1SR_{\text{♀}} \times SS_{\text{♂}}$ ) 的雌成螨进行生物测定, 利用剂量对数—死亡几率值线(LD-P) 进行统计分析。(2)交互抗性的测定。采用叶碟浸渍法进行生物测定, 利用软件 PoloPlus 计算  $LC_{50}$ 、斜率、95%置信限。抗性遗传分析表明:  $F_1$  代正交( $AbR_{\text{♀}} \times SS_{\text{♂}}$ ) 及反交( $SS_{\text{♀}} \times AbR_{\text{♂}}$ ) 的显性度  $DRS$  和  $DSR$  分别为 -0.525 和 -0.575, 显性度处于  $-1 < D < 0$ , 表明柑桔全爪螨对阿维菌素的抗性为不完全隐性遗传; 正、反交的  $F_1$  代所得  $LC_{50}$  的 95%置信限重叠, 表明抗性基因位于常染色体上; 回交  $F_2$  代期望值与实际 LD-P 曲线存在明显差异, 表明其对阿维菌素的抗性为多基因控制。交互抗性分析表明, 阿维菌素和联苯肼酯无交互抗性, 和丁氟螨酯有 23 倍的抗性, 与哒螨灵有 1915 倍的交互抗性。柑桔全爪螨田间种群对阿维菌素的抗性遗传为不完全隐性、常染色体、多基因控制的方式。柑桔全爪螨田间阿维菌素抗性种群与联苯肼酯无交互抗性, 与丁氟螨酯、哒螨灵分别具有中、高水平的交互抗性。

**关键词:** 柑桔全爪螨, 田间种群, 阿维菌素, 抗性遗传, 交互抗性

\*通讯作者, E-mail: wangjinjun@swu.edu.cn

# 氟啶虫酰胺对棉蚜的亚致死效应研究

王诗淇 陈雪维\*

(郑州大学农学院, 郑州 450001)

**摘要:** 氟啶虫酰胺是一种吡啶酰胺类杀虫剂, 科用于防治蚜虫、粉虱等刺吸式口器害虫。然而, 在自然环境中, 随着杀虫剂首次施用后药剂有效成分降解或昆虫非靶标性接触, 都会使昆虫暴露于低剂量或者亚致死剂量的杀虫剂中。本研究将探究不同剂量对棉蚜 (*Aphis gossypii* Glover) F0 代和 F1 代的亚致死效应。本研究以棉蚜为研究对象, 用 LC<sub>10</sub> 和 LC<sub>25</sub> 作为亚致死浓度, 处理棉蚜 F0 代, 记录 F0 代繁殖率和存活情况。并观察记录 F1 代蚜虫存活、蜕皮、以及产蚜情况, 采用年龄-时期生命表分析了 F1 代蚜虫个体各个龄期发育时间、寿命及繁殖率, 并分析内禀增长率 (intrinsic rate of increase,  $r_i$ )、周限增长率 (finite rate of increase,  $\lambda$ )、净增殖率 (net reproductive rate,  $R_0$ )、平均世代时间 (mean generation time,  $T$ ) 和总繁殖率 (gross reproductive rate, GRR) 等参数。结果表明, 氟啶虫酰胺的 LC<sub>25</sub> 与对照组和 LC<sub>10</sub> 处理相比, 其 F0 代总生存时间和繁殖能力都显著降低。与对照相比, F1 代棉蚜的各个龄期发育时间、总寿命长度及繁殖率都没有受到显著影响。然而, 用 LC<sub>25</sub> 氟啶虫酰胺处理 F0 代棉蚜, 显著延长了 F1 代棉蚜成虫前期 (pre-adult) 的周期。F1 代棉蚜种群参数分析结果显示, 用 LC<sub>10</sub> 和 LC<sub>25</sub> 作为亚致死浓度处理 F0 代蚜虫, 能显著降低 F1 代棉蚜的繁殖潜力, 并延长世代发生时间, 但是对照组、LC<sub>10</sub> 和 LC<sub>25</sub> 处理组 GRR 分别为  $30.523 \pm 0.091$ 、 $34.455 \pm 0.091$  和  $32.821 \pm 0.102$  ( $P < 0.01$ )。以上结果表明, 亚致死剂量氟啶虫酰胺能够一定程度抑制棉蚜的种群发生, 但也可能存在毒物兴奋效应的风险。本研究将有利于更加合理安全地利用氟啶虫酰胺进行棉蚜等害虫的防治。

**关键词:** 氟啶虫酰胺, 棉蚜, 年龄-时期生命表, 毒物兴奋反应, 隔代效应

\*通讯作者

# 氰戊菊酯诱导棉铃虫 *CYP6B7* 基因表达的顺式元件和反式因子鉴定和功能验证

黄云 郑钧月 吴沛卓 邱立红\*

(中国农业大学理学院应用化学系, 北京 100193)

**摘要:** 细胞色素 P450s 是一类超基因家族解毒酶系, 可诱导性是 P450 的一个重要特征。外源化合物 (如杀虫剂) 能诱导昆虫 P450 基因的表达而增强昆虫对杀虫剂的代谢和解毒, 进而促进昆虫对杀虫剂产生抗药性。前期研究表明棉铃虫 P450 *CYP6B7* 基因过量表达与其对氰戊菊酯抗药性密切相关, 而且 *CYP6B7* 能被氰戊菊酯诱导表达。目前氰戊菊酯诱导 *CYP6B7* 基因表达的具体调控机制尚不清楚。本研究首先利用基因组步移技术克隆得到长度为 1484 bp 的棉铃虫 *CYP6B7* 基因启动子序列; 通过对该启动子序列进行 3'端和 5'端截短, 构建不同长度缺失的启动子片段, 并利用双荧光素酶技术检测不同长度缺失启动子的氰戊菊酯诱导活性, 发现 *CYP6B7* 启动子中氰戊菊酯的响应区可能在-55 bp 到-94 bp 之间; 对这一区域序列进行定向突变, 最终确定棉铃虫 *CYP6B7* 启动子中氰戊菊酯的顺式作用元件位于-55 bp 到-84 bp 之间。随后, 我们构建棉铃虫全基因组 cDNA 文库, 以-55 bp 到-84 bp 的四段串联序列作为诱饵, 利用酵母单杂交技术筛选到 41 个可能和诱饵序列结合的候选转录因子, 即反式作用因子 (简称 CAPs, *CYP6B7*-fenvalerate association proteins)。将筛选到的 CAPs 与诱饵质粒进行点对点实验, 验证得到 33 个阳性 CAPs。此外, 利用实时荧光定量 PCR 检测氰戊菊酯对棉铃虫中候选转录因子表达量的影响, 发现氰戊菊酯能显著诱导 *CAP5*, *CAP7*, *CAP9*, *CAP15*, *CAP19*, *CAP25*, *CAP30*, *CAP33* 和 *CAP35* 的表达水平, 说明上述候选转录因子可能在棉铃虫调控 *CYP6B7* 基因对氰戊菊酯的解毒代谢中起重要作用。为了进一步验证候选转录因子的功能, 利用 RNAi 技术分别沉默该 9 个候选转录因子, 结果发现沉默 *CAP7*, *CAP9*, *CAP19* 和 *CAP30* 后, *CYP6B7* 的转录被抑制, 同时棉铃虫对氰戊菊酯的敏感性提高 1.36–1.69 倍。以上研究结果表明, 可能有多个反式作用因子通过和顺式作用元件结合, 参与调控氰戊菊酯对棉铃虫 *CYP6B7* 基因的诱导表达, 从而在棉铃虫对氰戊菊酯的抗药性中起重要作用。

**关键词:** 棉铃虫, 氰戊菊酯, *CYP6B7*, 诱导, 顺式作用元件, 反式作用因子

\*通讯作者

## 低等六足动物无全基因组复制

靳建锋<sup>1</sup> 赵宇欣<sup>1</sup> 张国强<sup>1</sup> 杜诗雨<sup>1</sup> 俞道远<sup>2\*</sup> 张峰<sup>1\*</sup>

(1. 南京农业大学植物保护学院昆虫系, 昆虫分类与水生昆虫实验室, 南京 210095;

2. 南京农业大学资源与环境学院土壤生态实验室, 南京 210095)

**摘要:** 基因复制是生物适应性进化的重要机制。全基因组复制 (WGD) 是促进物种多样化的主要动力。先前的研究表明 WGD 发生在六足动物的进化过程中; 但是其基于基因树和分子钟推断模式仍然具有挑战性。此外, 染色体水平基因组的缺乏也限制了对于 WGD 的研究。本研究利用低等六足动物的 11 个基因组和转录组数据基于三种方法: (1) 同义距离 ( $K_S$ ) 分布; (2) 染色体内部共线性; (3) Hox 基因的数量来证明 WGD 是否发生在这个类群。同义距离分布分析在 11 个物种中未找到 WGD 发生的证据。本研究通过染色体水平基因组 (*Yoshiicerus persimilis*, Collembola (弹尾纲)) 内部共线性分析发现在一号染色体有大规模的基因组复制, 且其他五条染色体无此现象, 这些复制的基因主要与增值和生长相关。此外, 单套 Hox 基因也无法证明 WGD 发生在低等六足进化过程中。本研究无证据表明 WGD 在低等六足动物的进化中起重要作用; 局部大规模基因复制可能与独特的生物学或进化特征有关。本研究获得的高质量基因组将为比较和功能基因组学研究以及探索低等六足动物的进化提供宝贵的组学资源。

**关键词:** 基因复制, 全基因组复制, 基因共线性, Hox 基因

\*通讯作者

# 低等六足动物系统发育基因组学初步研究

杜诗雨 张峰\*

(南京农业大学植物保护学院昆虫系, 昆虫分类与水生昆虫实验室, 南京 210095)

**摘要:** 低等六足动物 (basal Hexapoda) 包括弹尾纲 (Collembola)、原尾纲 (Protura) 和双尾纲 (Diplura) 3 个类群, 它们与昆虫纲 (Insecta) 一起, 被称为六足总纲 (Hexapoda)。低等六足动物特殊的形态特征及独特的系统发育地位, 为探讨节肢动物进化、六足动物起源提供了极为重要的系统学研究价值。低等六足动物高阶元类群间的系统发育关系一直备受争议, 多种假说层出不穷, 至今难以取得共识。传统的低等六足动物形态学系统学存在多种不同的分类学假说。经典分子系统学研究始终未能统一低等六足动物类群间的系统发生关系; 线粒体基因组大多数的分析将弹尾纲、原尾纲位于六足总纲支系之外, 使得六足总纲的单系性受到了挑战。使用大量分子标记、提高基因组数据利用效率、消减系统性误差在系统发育中的应用, 成为当前低等六足动物系统发育研究的焦点。本研究基于低深度二代全基因组测序技术组装基因组, 结合 NCBI 已公布数据, 提取单拷贝直同源基因 (USCO), 运用多种过滤策略尽可能消除系统性误差, 重建可靠的低等六足动物系统发生关系。基于 2 种不同的氨基酸序列矩阵, 产生了 2 种不同的拓扑结构。所有结果均支持六足总纲的单系性以及三类低等六足动物各自的单系性。基于溯祖模型 (ASTRAL) 的系统发育推断结果为 (弹尾纲+ (原尾纲+ (双尾纲+昆虫纲)))。基于位点异质性模型 (PMSF) 得到的系统发育关系为 ((弹尾纲+原尾纲)+ (双尾纲+昆虫纲)), 支持了传统的缺尾类假说。基于大量分子标记并寻求系统性误差来源进行系统发育研究极为重要。本研究为进一步探究低等六足动物的系统发生关系提供了重要的分子依据。

**关键词:** 弹尾纲, 原尾纲, 双尾纲, 系统发育, 单拷贝直同源基因, 二代全基因组

\*通讯作者

# 利用低深度基因组数据探究平坦蜂属 (*Homalictus*) 淡脉隧蜂属 (*Lasioglossum*) 之间的系统发育关系 (膜翅目: 隧蜂科)

张丹<sup>1</sup> 牛泽清<sup>1</sup> 张峰<sup>2</sup> 朱朝东<sup>1</sup>

(1. 动物进化与系统学院重点实验室, 中国科学院动物研究所, 北京 100101;

2. 南京农业大学植物保护学院昆虫系, 昆虫分类与水生昆虫实验室, 南京 210095)

**摘要:** 淡脉隧蜂属 (*Lasioglossum*) 是隧蜂科 (Halictidae) 中物种多样性最高, 且属内关系最为复杂的一个类群, 全世界共有超过 1 800 多种已描述的物种。该属显著的特征为雌性的第一中横脉和第一回脉较周围的翅脉弱, 但隧蜂科平坦蜂属 (*Homalictus*) 的物种也具有同样的特征, 近些年对于平坦蜂属的研究, 其分类地位一直有争议。而对淡脉隧蜂属的研究中, 其和平坦蜂属之间的系统发育关系的也是研究热点问题之一, 即是否隧蜂科所有翅脉较弱的物种, 都属于淡脉隧蜂属。本研究中, 我们利用 24 个物种 (22 个内群以及 2 个外群) 的低深度基因组数据, 分别提取 USCO (1101 个基因) 和 UCE (1400 个基因) 两套分子标记, 通过构建 ML 树和物种树, 推断淡脉隧蜂属和平坦蜂属之间以及淡脉隧蜂属内部部分亚属之间的系统发育关系。在该研究中, 两个数据集共计推断 6 颗 ML 树 2 颗物种树, 其结果高度一致。系统发育以及拓扑结构检验的结果表明, 淡脉隧蜂属中 *Lasioglossum series* 和 *Hemihalictus series* 为单系。平坦蜂属为淡脉隧蜂属的一个亚属, 同时恢复 *Rostrohalictus* 的亚属地位。因此, 在该研究中我们将平坦蜂属归为淡脉隧蜂属的亚属, 并重新定义淡脉隧蜂属, 即隧蜂科中所有翅脉较弱的物种都归为淡脉隧蜂属。

**关键词:** 蜜蜂总科, 蜜蜂, 系统发育基因组学, UCE, USCO

# 利用 PacBio 单分子实时测序技术揭示蜜蜂球囊菌孢子中转录组的复杂性\*

孙明会<sup>1\*\*</sup> 隆琦<sup>1</sup> 陈大福<sup>1,2</sup> 郭睿<sup>1,2\*\*\*</sup>

(1. 福建农林大学动物科学学院蜂学学院, 福州 350002; 2. 福建农林大学蜂疗研究所, 福州 350002)

**摘要:** 本研究旨在利用 PacBio 单分子实时 (single molecule real-time, SMRT) 测序技术对蜜蜂球囊菌孢子 (AaS) 中基因的可变剪切 (alternative splicing, AS)、可变多聚腺苷酸化 (alternative polyadenylation, APA) 以及长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 进行鉴定和分析。采用 Suppa 软件对蜜蜂球囊菌孢子中基因的 AS 事件进行鉴定。统计比对上转录本的 Hq\_isoform 的结束位置以反映该转录本 polyA 起始的位置。采用 MEME 软件对 APA 位点上游 50 bp 的序列特征进行分析以鉴定 motif。联用 CPC 和 CNCI 软件和比对 Swiss-prot 数据库的方法预测 lncRNA, 取三者交集作为高可信度的 lncRNA 集合。共鉴定出 2 609 次 AS 事件, 包括 1 227 (47.03%) 次内含子保留 (retained intron, RI), 842 (32.27%) 次可变 3' 剪切 (alternative 3' splice sites, A3), 415 (15.91%) 次可变 5' 剪切 (alternative 5' splice sites, A5), 85 (3.26%) 次可变起始外显子 (alternative first exons, AF), 35 (1.34%) 次外显子跳跃 (skipping exon, SE), 4 (0.15%) 次可变末端外显子 (alternative last exons, AL) 和 1 (0.04%) 次互斥外显子 (mutually exclusive exons, MX)。鉴定出 5 552 个基因发生 APA, 其中含有 5 个以上 poly (A) 剪接位点的基因数量最多 (2 197, 39.57%)。序列特征分析结果显示, 蜜蜂球囊菌孢子中全长转录本的 3' UTR 的上下游表现出明显的碱基倾向性, U 和 A 分别在 3' UTR 的下游和上游富集。鉴定出 953 条 lncRNAs, 与 mRNA 相比, 这些 lncRNA 的外显子数量更少且长度更短, 内含子长度更短, 转录本长度更短, GC 含量更低, AS 事件数量更少。研究揭示了蜜蜂球囊菌孢子中转录组的复杂性, 完善了参考基因组和转录组的结构和注释, 丰富了真菌中 AS 和 APA 信息。

**关键词:** 蜜蜂球囊菌, PacBio 测序, 可变剪切, 可变多聚腺苷酸化, 长链非编码 RNA, 转录组

\*基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (CARS-44-KXJ7); 福建农林大学硕士生导师团队项目 (郭睿); 江西省蜜蜂生物学与饲养重点实验室开放基金项目 (JXKLHBB-2020-04); 福建省病原真菌与真菌毒素重点实验室开放课题 (郭睿); 江西省应用研究培育计划 (20181BBF68003)

\*\*第一作者, E-mail: hnmhsun@126.com

\*\*\*通讯作者, E-mail: ruiguo@fafu.edu.cn

# 东方蜜蜂微孢子虫毒力因子相关基因和全长转录本的鉴定及分析\*

余尚骏<sup>1\*\*</sup> 付中民<sup>1,2</sup> 隆琦<sup>1</sup> 许雅静<sup>1</sup> 刘佳美<sup>1</sup> 熊翠玲<sup>1</sup>  
徐国钧<sup>1</sup> 陈大福<sup>1,2\*\*\*</sup> 郭睿<sup>1,2\*\*\*</sup>

(1. 福建农林大学动物科学学院蜂学学院, 福州 350002; 2. 福建省蜂疗研究所, 福州 350002)

**摘要:** 东方蜜蜂微孢子虫 *Nosema ceranae* 侵染成年蜜蜂中肠上皮细胞导致蜜蜂孢子虫病。本研究基于前期获得的东方蜜蜂微孢子虫孢子的纳米孔 (Nanopore) 长读段测序数据对病原的毒力因子相关基因和全长转录本进行鉴定和分析, 为进一步探究东方蜜蜂微孢子虫孢子及其侵染蜜蜂宿主过程中的分子功能研究提供基础。将东方蜜蜂微孢子虫的所有全长转录本比对参考基因组后, 比对到 Nr、Swiss-Prot 和 Pfam 数据库, 鉴定毒力因子相关的基因和转录本。并对转录本的数量进行归一化处理, 并采用 CPM (Counts Per Million) 法计算全长转录本的表达量。利用 TAPIS pipeline 软件和 MEME 软件分别鉴定东方蜜蜂微孢子虫毒力因子相关基因的 APA 位点和相关转录本 APA (Alternative polyadenylation, APA) 位点上游 50bp 序列特征的 motif。共鉴定到 ABC 转运体、孢壁蛋白、ATP/ADP 转位酶、几丁质酶、锚定盘复合体蛋白、丙酮酸激酶、极管蛋白、6-磷酸果糖激酶、蓖麻毒素 B 凝集素相关的共 51 个基因的 86 条转录本。鉴定到东方蜜蜂微孢子虫的 ABC 转运体编码基因 (gene2788)、ABC 转运体编码基因 (gene1745) 和丙酮酸激酶编码基因 (gene2554) 分别含 2 个、1 个和 1 个 APA 位点。在毒力因子相关全长转录本的 APA 位点上游鉴定到 13 个 motif, 包括 CGCCAG、CAUCCA 和 CAUCCG 等。首次利用 Nanopore 测序数据鉴定到大量的东方蜜蜂微孢子虫毒力因子相关基因和全长转录本; 部分毒力因子相关基因可能通过可变剪接 (Alternative splicing, AS) 形成 1 条以上的转录本; 东方蜜蜂微孢子虫的 2 个 ABC 转运体和 1 个丙酮酸激酶编码基因存在 APA 现象。

**关键词:** 蜜蜂, 东方蜜蜂微孢子虫, 毒力因子, 第三代测序技术, 可变腺苷酸化

\*基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (CARS-44-KXJ7); 福建农林大学杰出青年科研人才项目 (xjq201814); 福建农林大学硕士生导师团队项目 (郭睿)

\*\*第一作者, E-mail: kejunyu2021@163.com

\*\*\*共同通讯作者, E-mail: ruiguo@fafu.edu.cn; dfchen826@fafu.edu.cn

# 东方蜜蜂微孢子虫的 SNP 与 InDel 位点鉴定及分析\*

张文德<sup>1\*\*</sup> 孙明会<sup>1</sup> 陈大福<sup>1,2\*\*\*</sup> 郭睿<sup>1,2\*\*\*</sup>

(1.福建农林大学动物科学学院蜂学学院, 福州 350002; 2.福建农林大学蜂疗研究所, 福州 350002)

**摘要:** 东方蜜蜂微孢子虫 *Nosema ceranae* 是一种专性侵染成年蜜蜂中肠上皮细胞的单细胞真菌病原, 广泛感染世界各地的蜂群。本研究拟利用已获得的东方蜜蜂微孢子虫纯净孢子的高质量转录组数据对东方蜜蜂微孢子虫的单核苷酸多态性 (Single nucleotide polymorphism, SNP) 和插入缺失 (Insertion-Deletion, InDel) 位点进行鉴定和分析, 旨在丰富东方蜜蜂微孢子虫的 SNP 和 InDel 信息, 并为新型分子标记的开发提供基础。使用 GATK 软件识别东方蜜蜂微孢子虫的 SNP 和 InDel 位点。采用 SnpEff 软件预测变异位点在基因组发生的区域及变异产生的影响。通过相关生物信息学软件将 SNP 位点所在基因和 InDel 位点所在基因分别比对 GO 和 KEGG 数据库, 获得相应的功能和通路注释。共鉴定到 28 195 个 SNP 位点, 其中发生转换和颠换的 SNP 位点分别有 21 403 和 6 792 个; 上述 SNP 位点的突变类型有 12 种, 其中最丰富的突变类型为 C/T; 分布在 CDS 区的 SNP 位点最多, 其次是基因间区、上游区、下游区和内含子区; 最丰富的密码子突变类型是同义突变; SNP 位点所在基因可注释到代谢进程、细胞组分和催化活性等 43 个 GO 条目和代谢途径、核糖体和等次生代谢产物的生物合成等 85 条 KEGG 通路。共鉴定到 2 831 个 InDel 位点, 其中分布在基因间区 InDel 位点最多, 分布在 CDS 区的 InDel 位点最少; 最丰富的密码子突变类型是移码突变; InDel 位点所在基因可注释到细胞进程、细胞和结合等 38 个 GO 条目以及代谢途径、次生代谢产物的生物合成及核糖体等 73 条 KEGG 通路。东方蜜蜂微孢子虫中存在大量的 SNP 和 InDel 位点, SNP 位点的突变类型主要为转换, 与其他物种类似; SNP 位点与 InDel 位点的基因组功能元件分布规律和突变类型具有明显差异; SNP 和 InDel 位点所在基因与东方蜜蜂微孢子虫适应宿主细胞内环境及增殖过程具有潜在关系。

**关键词:** 东方蜜蜂微孢子虫, 单核苷酸多态性, 插入缺失, 转录组, 二代测序

\*基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (CARS-44-KXJ7); 福建农林大学杰出青年科研人才项目 (xjq201814); 福建农林大学硕士生导师团队项目 (郭睿); 福建省病原真菌与真菌毒素重点实验室开放课题 (郭睿)

\*\*第一作者, E-mail: wdebee@163.com

\*\*\*共同通讯作者, E-mail: ruiguo@fafu.edu.cn; dfchen826@fafu.edu.cn

# 东方蜜蜂微孢子虫 microRNA 的全转录组鉴定与分析\*

张文德<sup>1\*\*</sup> 郭意龙<sup>1</sup> 陈大福<sup>1,2\*\*\*</sup> 郭睿<sup>1,2\*\*\*</sup>

(1. 福建农林大学动物科学学院蜂学学院, 福州 350002; 2. 福建农林大学蜂疗研究所, 福州 350002)

**摘要:** 本研究利用 small RNA-seq 技术对东方蜜蜂微孢子虫 *Nosema ceranae* 的纯净孢子样品进行测序, 通过生物信息学方法对孢子中的微小 RNA (microRNA, miRNA) 进行全转录组鉴定和分析, 并通过分子生物学手段进行 miRNA 的表达和序列验证, 以期丰富东方蜜蜂微孢子虫的 miRNA 信息, 并为深入探究 miRNA 在病原孢子和病原侵染中的功能提供理论和实验依据。利用 miRDeep2 软件包进行 miRNA 的鉴定。采用茎环反转录 PCR (Stem-loop RT-PCR) 验证上述 miRNA 的表达。通过分子克隆与 Sanger 测序验证 miRNA 的序列。使用 TargetFinder 软件预测上述 miRNA 的靶基因, 并通过相关软件对靶基因进行数据库注释。根据 miRNA 与靶基因的靶向结合关系构建调控网络, 再利用 Cytoscape 软件进行可视化。在东方蜜蜂微孢子虫孢子中共鉴定到 10 个 miRNA; 这些 miRNA 的长度分布介于 21–25 nt, 首位碱基表现出 U 偏向性, 每一位碱基的偏向性差异明显。Stem-loop RT-PCR 验证结果表明上述 10 个 miRNA 均真实表达。Sanger 测序结果显示随机选取的 2 个 miRNA 的序列真实可靠。共预测出 249 个靶基因, 其中分别有 249、118、136 和 3 个靶基因可注释到 Nr、Swiss-Prot、KOG 和 eggNOG 数据库。此外, 分别有 134 和 71 个靶基因可注释到 GO 数据库的 30 个功能条目和 KEGG 数据库的 54 条通路。首次在东方蜜蜂微孢子虫孢子中鉴定到 10 个 miRNA 的存在和表达, 它们的结构特征与其他物种的 miRNA 类似, 首位碱基具有 U 偏向性, 每一位碱基的偏向性差异明显; 这些 miRNA 潜在通过调控靶基因表达参与孢子中的生命活动。

**关键词:** 蜜蜂, 宿主, 东方蜜蜂微孢子虫, 非编码 RNA, 微小 RNA, 调控

\*基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (CARS-44-KXJ7); 福建农林大学杰出青年科研人才项目 (xjq201814); 福建农林大学硕士生导师团队项目 (郭睿); 福建省病原真菌与真菌毒素重点实验室开放课题 (郭睿)

\*\*第一作者, E-mail: wdebee@163.com

\*\*\*共同通讯作者, E-mail: ruiguo@fafu.edu.cn; dfchen826@fafu.edu.cn

# 基于 PacBio 测序数据的蜜蜂球囊菌转录因子、融合基因及 RNA 编辑位点的鉴定\*

吴 鹰<sup>1\*\*</sup> 孙明会<sup>1</sup> 陈大福<sup>1,2</sup> 郭 睿<sup>1,2\*\*\*</sup>

(1. 福建农林大学动物科学学院蜂学学院, 福州 350002; 2. 福建农林大学蜂疗研究所, 福州 350002)

**摘要:** 本研究旨在利用已获得的 PacBio 单分子实时(Single molecule real-time, SMRT)测序数据对蜜蜂球囊菌 *Ascosphaera apis* 菌丝(AaM)和孢子(AaS)中的转录因子(TF)、融合基因和 RNA 编辑位点进行鉴定和分析, 以期丰富蜜蜂球囊菌的相关信息, 并为进一步探究它们的功能提供理论依据。利用 BLASTx 工具将 AaM 和 AaS 的全长转录本序列比对到 Nr, SwissProt 和 KEGG 数据库以获得一致性最高的蛋白序列, 再利用 hmmscan 软件将上述蛋白序列比对到 Plant TFdb 数据库以获得 TF 的分类及注释信息。采用 TOFU 软件中的 fusion\_finder.py 程序进行融合基因的预测, 进而分析融合基因的序列和位置信息。使用 SAMtools 预测 AaM 和 AaS 中的 RNA 编辑位点, 再利用 ANNOVAR 软件对 RNA 编辑位点进行注释, 进而采用相关生物信息学软件对 RNA 编辑位点基因进行功能和通路注释。在 AaS 中共鉴定到 17 个 TF 家族的 213 个 TF, 其中 C2H2 家族包含的 TF 成员最多。在 AaM 和 AaS 中分别鉴定到 921 和 510 个融合基因, 二者共有的融合基因为 510 个, 特有的融合基因分别为 411 和 0 个。在 AaM 和 AaS 中分别鉴定到 547 和 191 个 RNA 编辑位点, 其中同义单核苷酸突变的数量最多。此外, 在 AaM 中鉴定到 12 种碱基替换类型, 其中发生 C->T 的 RNA 编辑位点数量最多, 达到 158 个; 在 AaS 中鉴定到 9 种碱基替换类型, 其中发生 C->T 和 G->T 的 RNA 编辑位点数量最多, 均有 42 个。AaM 和 AaS 中 RNA 编辑位点基因分别涉及 19 和 24 个功能条目; 此外还能注释到 11 和 20 条通路。蜜蜂球囊菌的菌丝和孢子中含有丰富的 TF、融合基因和 RNA 编辑位点; 转录因子 C2H2 家族与蜜蜂球囊菌菌丝和孢子的生长发育和细胞活动具有潜在关联; RNA 编辑位点的编辑类型在蜜蜂球囊菌和其他物种中具有物种特异性; RNA 编辑可能在蜜蜂球囊菌菌丝和孢子的生长和代谢中发挥作用。

**关键词:** 蜜蜂球囊菌, PacBio 测序, RNA 编辑, 转录因子, 融合基因

\*基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-44-KXJ7)、福建农林大学硕士生导师团队项目(郭睿)、江西省蜜蜂生物学与饲养重点实验室开放基金项目(JXKLHBB-2020-04)、江西省应用研究培育计划(20181BBF68003)

\*\*第一作者, E-mail: wy569703@163.com

\*\*\*共同通讯作者, E-mail: ruiguo@fafu.edu.cn

# 过表达和敲减 ame-miR-13b 对意大利蜜蜂幼虫肠道内基因表达的影响\*

王杰<sup>1\*\*</sup> 许雅静<sup>1</sup> 陈大福<sup>1,2\*\*\*</sup> 郭睿<sup>1,2\*\*\*</sup>

(1. 福建农林大学动物科学学院蜂学学院, 福州 350002; 2. 福建农林大学蜂疗研究所, 福州 350002)

**摘要:** 微小 RNA (microRNA, miRNA) 在昆虫的繁殖、发育和免疫等重要生命活动的调控过程中扮演关键角色。本研究旨在探究在意大利蜜蜂 *Apis mellifera ligustica* 幼虫个体水平过表达与敲减 ame-miR-13b 对其靶基因表达的影响, 为深入探究 ame-miR-13b 调控意大利蜜蜂幼虫肠道发育的分子机理提供理论和实验依据。根据 ame-miR-13b 的核酸序列设计合成相应的模拟物 (mimic) 和抑制物 (inhibitor) 并饲喂意大利蜜蜂幼虫。通过 RT-qPCR 检测意大利蜜蜂幼虫肠道中 ame-miR-13b 的过表达和敲减效果, 以及过表达和敲减 ame-miR-13b 对靶基因 Ecr, Egfr 和 P450 18a1 表达的影响。饲喂 mimic 后, ame-miR-13b 在意大利蜜蜂 4-6 日龄幼虫肠道中均显著上调表达; 饲喂 inhibitor 后, ame-miR-13b 在 4 日龄幼虫肠道中下调表达, 在 5 和 6 日龄幼虫肠道中显著下调表达。过表达 ame-miR-13b 后, 意大利蜜蜂 6 日龄幼虫肠道中 Egfr 的表达量显著降低, 而 Ecr 和 P450 18a1 的表达量均显著升高。敲减 ame-miR-13b 后, 意大利蜜蜂 6 日龄幼虫肠道中 Egfr 上调表达但不显著, Ecr 显著上调表达, 而 P450 18a1 显著下调表达。通过饲喂法在意大利蜜蜂幼虫个体水平成功实现了 miRNA 的过表达和敲减; ame-miR-13b 与 Egfr 之间存在潜在的负调控关系。

**关键词:** 意大利蜜蜂, 幼虫, 肠道, 微小 RNA, ame-miR-13b, 靶基因

\*基金项目: 国家自然科学基金 (31702190)、国家现代农业产业技术体系建设专项 (CARS-44-KXJ7)、福建农林大学硕士生导师团队项目 (郭睿)、福建省病原真菌与真菌毒素重点实验室开放课题 (郭睿)、江西省蜜蜂生物学与饲养重点实验室开放基金项目 (JXKLHBB-2020-04)

\*\*第一作者, E-mail: wanglegejie@126.com

\*\*\*共同通讯作者, E-mail: ruiguo@fafu.edu.cn; dfchen826@fafu.edu.cn

# 基于第三代长读段测序数据解析蜜蜂球囊菌基因的可变剪切与可变腺苷酸化\*

王杰<sup>1\*\*</sup> 蒋海滨<sup>1</sup> 熊翠玲<sup>1</sup> 郑燕珍<sup>1,2</sup> 付中民<sup>1,2</sup> 陈大福<sup>1,2\*\*\*</sup> 郭睿<sup>1,2\*\*\*</sup>

(1. 福建农林大学动物科学学院蜂学学院, 福州 350002; 2. 福建农林大学蜂疗研究所, 福州 350002)

**摘要:** 蜜蜂球囊菌 *Ascosphaera apis* (简称球囊菌) 是一种专性侵染蜜蜂幼虫的真菌病原, 导致的白垩病是严重影响养蜂生产的顽疾, 每年给养蜂业造成较大损失。本研究旨在基于已获得的第三代长读段测序数据对球囊菌菌丝 (Aam) 和孢子 (Aas) 中基因的可变剪切 (AS) 和可变多聚腺苷酸化 (APA) 进行深入分析。利用 Astalavista 软件鉴定 Aam 和 Aas 中基因的 AS 事件类型。利用 IGV 浏览器对部分剪切异构体 (isoform) 的结构进行可视化。通过 TAPIS pipeline 对 Aam 和 Aas 中基因的 APA 位点进行鉴定。在 Aam 中共鉴定到 286 次 AS 事件, 包括 162 次 RI (Retained intron), 87 次 A3 (Alternative 3' splice-site)、32 次 A5 (Alternative 5' splice-site) 和 5 次 SE (Skipping exon); 在 Aas 中共鉴定到 559 次 AS 事件, 包括 305 次 RI、155 次 A3、85 次 A5、13 次 SE 和 1 次 MEE (Mutually exclusive exon)。Aam 中共鉴定到 2 748 个基因含有 1 个及以上的 APA 位点, 其中含有 1 个 APA 位点的基因数量最多 (726, 26.42%); Aas 中共鉴定到 2768 个基因含有 1 个及以上的 APA 位点, 其中含有 5 个以上 APA 位点的基因数量最多 (1180, 42.63%)。本研究通过对球囊菌菌丝和孢子中基因的 AS 和 APA 进行深入分析, 揭示了球囊菌转录组的复杂性, 为完善现有的基因组和转录组注释提供了宝贵信息, 也为探究 AS 和 APA 在球囊菌的基因表达调控中的作用提供了关键基础。

**关键词:** 长读段测序, 牛津纳米孔, 蜜蜂球囊菌, 可变剪切, 可变腺苷酸化

\*基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-44-KXJ7); 福建省自然科学基金(2018J05042); 福建省教育厅中青年教师教育科研项目(JAT170158); 福建农林大学硕士生导师团队项目(郭睿); 福建农林大学杰出青年科研人才计划(xjq201814); 福建省病原真菌与真菌毒素重点实验室(福建农林大学)开放课题; 福建农林大学优秀硕士学位论文资助基金(杜宇)

\*\*第一作者, E-mail: wanglegejie@163.com

\*\*\*共同通讯作者, E-mail: ruiguo@fafu.edu.cn; dfchen826@fafu.edu.cn

# 利用第三代纳米孔长读段测序技术构建和注释 蜜蜂球囊菌的全长转录组\*

祝智威<sup>1\*\*</sup> 杜宇<sup>1</sup> 陈大福<sup>1\*\*\*</sup> 郭睿<sup>1,2\*\*\*</sup>

(1. 福建农林大学动物科学学院蜂学学院, 福州 350002; 2. 福建农林大学蜂疗研究所, 福州 350002)

**摘要:** 利用 Nanopore 长读段测序技术对蜜蜂球囊菌 *Ascosphaera apis* 的纯化菌丝 (Aam) 和孢子 (Aas) 进行测序, 并构建和注释高质量全长转录组。利用 Guppy 软件对原始读段进行碱基识别, 通过过滤短片段和低质量原始读段得到有效读段。通过识别两端引物鉴定全长转录本序列。通过比对 Nr 等数据库获得全长转录本的注释信息。分别利用 CPC 等四种方法对长链非编码 RNA (lncRNA) 进行预测, 取交集作为高可信度的 lncRNA。Aam 和 Aas 分别测得 6 321 704 和 6 259 727 条原始读段, 质控后鉴定到 9 859 和 16 795 条非冗余全长转录本, N50 分别为 1 482 和 1 658 bp, 平均长度分别为 1 187 和 1 303 bp。有 6 512 条非冗余全长转录本为菌丝和孢子所共有, 分别有 3 347 和 10 283 个非冗余全长转录本为二者特有。共鉴定到 20 142 条全长转录本, 其中分别有 20 809、11 151、17 723、12 164、11 340 和 9 833 条全长转录本可注释到 Nr、KOG、eggNOG、Pfam、GO 和 KEGG 数据库。上述全长转录本可注释到细胞组件、催化活性和代谢进程等 45 个功能条目; 还可注释到抗生素的生物合成、核糖体和剪接体等 49 条通路。共鉴定到 648 条高可信度的 lncRNA, 包含 480 条基因间区 lncRNA、119 条反义链 lncRNA 和 49 条正义链 lncRNA。构建和注释了蜜蜂球囊菌的首个高质量全长转录组, 为探究蜜蜂球囊菌转录组的复杂性, 完善参考基因组的序列和功能注释信息及开展可变剪接体的功能研究提供了关键依据。

**关键词:** 第三代高通量测序技术, 纳米孔测序, 全长转录本, 参考转录组

\*基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项 (CARS-44-KXJ7); 福建省自然科学基金 (2018J05042); 福建农林大学杰出青年科研人才计划 (xjq201814); 福建省病原真菌与真菌毒素重点实验室开放课题 (郭睿); 江西省蜜蜂生物学与饲养重点实验室开放基金 (JXKLHBB-2020-04)

\*\*第一作者, E-mail: zzw15235470398@163.com

\*\*\*共同通讯作者, E-mail: ruigu@fafu.edu.cn; dfchen826@fafu.edu.cn

# 基于 PacBio 测序数据的蜜蜂球囊菌 SNP 与 InDel 位点发掘及分析\*

蔡宗兵<sup>1\*\*</sup> 张文德<sup>1</sup> 陈大福<sup>1,2\*\*\*</sup> 郭睿<sup>1,2\*\*\*</sup>

(1. 福建农林大学动物科学学院蜂学学院, 福州 350002; 2. 福建农林大学蜂疗研究所, 福州 350002)

**摘要:** 本研究拟利用已获得的蜜蜂球囊菌 *Ascosphaera apis* 菌丝的 PacBio 单分子实时 (Single molecule real-time, SMRT) 测序数据对蜜蜂球囊菌的单核苷酸多态性 (SNP) 和插入缺失 (InDel) 突变位点进行发掘和分析, 旨在丰富蜜蜂球囊菌的 SNP 和 InDel 位点信息, 并为新型分子标记的开发和应用提供基础。先采用 SAMtools 软件进行全长转录本中突变位点的识别, 再利用 ANNOVAR 软件将识别的突变位点与蜜蜂球囊菌参考基因组 (assembly AAP 1.0) 进行比对以检测和分析 SNP 位点和 InDel 位点。通过相关生物信息学软件将上述 SNP 位点和 InDel 位点所在基因分别比对 GO 和 KEGG 数据库, 从而获得相应的功能和通路注释。在蜜蜂球囊菌菌丝中共鉴定到 6 743 个 SNP 位点, 包括 6 092 个纯合位点和 653 个杂合位点; 其中发生转换和颠换的 SNP 位点分别有 4 887 和 1 856 个; 此外, 上述 SNP 位点主要分布于外显子; SNP 的突变类型中数量最多的是同义单核苷酸突变; SNP 位点所在基因可注释到 34 个 GO 条目和 76 个 KEGG 通路。共鉴定到 597 个 InDel 位点, 包括 349 个纯合位点和 248 个杂合位点; 这些 InDel 位点在基因下游区分布的数量最多; InDel 的突变类型中非移码插入最为丰富; InDel 位点所在基因可在 39 个 GO 条目和 87 条 KEGG 通路。鉴定到蜜蜂球囊菌的大量 SNP 和 InDel 位点, 明确了 SNP 和 InDel 位点的突变类型、基因组功能元件分布和密码子突变类型, 并揭示了 SNP 和 InDel 位点与菌丝生长、孢子萌发及病原致病性等重要生物学过程的潜在关联。

**关键词:** 蜜蜂球囊菌, 第三代测序技术, 单分子实时测序, 单核苷酸多态性, 插入缺失突变

\*基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (CARS-44-KXJ7); 福建农林大学硕士生导师团队项目 (郭睿); 福建省病原真菌与真菌毒素重点实验室开放课题 (郭睿); 江西省应用研究培育计划 (20181BBF68003)

\*\*第一作者, E-mail: caizongbing@126.com

\*\*\*通讯作者, E-mail: ruiguo@fafu.edu.cn; dfchen826@fafu.edu.cn

# 蜜蜂球囊菌菌丝和孢子中环状 RNA 的鉴定及比较分析\*

蒋海宾\*\* 祝智威<sup>1</sup> 熊翠玲<sup>1</sup> 郑燕珍<sup>1,2</sup> 付中民<sup>1,2</sup> 徐国钧<sup>1,2</sup>  
陈大福<sup>1,2</sup> 郭 睿<sup>1,2\*\*\*</sup>

(1. 福建农林大学动物科学学院蜂学学院, 福州 350002; 2. 福建农林大学蜂疗研究所, 福州 350002)

**摘要:** 本研究旨在明确蜜蜂球囊菌 *Ascosphaera apis* 菌丝和孢子中环状 RNA (circular RNA, circRNA) 的数量、种类和表达谱差异, 并探讨共有、特有和差异表达 circRNA (DEcircRNA) 在菌丝与孢子中的潜在作用。基于前期获得的高质量 RNA-seq 数据, 利用 find\_circ 软件预测 circRNA。通过 Venn 分析筛选 AaM 和 AaS 的共有和特有 circRNA。根据  $P \leq 0.05$  且  $|\log_2 \text{fold change}| \geq 1$  的标准筛选菌丝和孢子的 DEcircRNA。对其来源基因进行功能和通路注释。预测 circRNA 靶向的 miRNA 及 miRNA 靶向的 mRNA。对竞争性内源 RNA (ceRNA) 调控网络进行可视化。通过 RT-qPCR 对 DEcircRNA 进行验证。在菌丝和孢子中分别鉴定到 1868 和 2225 个 circRNA, 二者共有的 circRNA 为 1098 个, 特有的 circRNA 分别为 770 和 1127 个。AaM 和 AaS 的 circRNA 长度主要介于 1000–2000 nt, 基因间区 circRNA 为主要环化类型。共有 circRNA 的来源基因可注释到 29 个功能条目和 14 类通路; DEcircRNA 的来源基因可注释到 29 个功能条目和 40 条通路。另外, 36 个共有 circRNA 靶向 4 个 miRNA 进而调控 6 个与内吞作用通路相关的靶 mRNA; 4 (255) 个 AaM (AaS) 的特有 circRNA 靶向 2 (2) miRNA 进而调控 8 (2) 个次级代谢产物生物合成通路相关的靶 mRNA; 9 个 DEcircRNA 靶向 2 个 DEmiRNA 进而调控 3 个 MAPK 信号通路相关的 DEmRNA。RT-qPCR 结果显示 10 个 DEcircRNA 的表达趋势与测序数据一致。蜜蜂球囊菌菌丝和孢子共有 circRNA、特有 circRNA 和 DEcircRNA 可能通过调控来源基因表达和充当 ceRNA 的方式调节物质和能量代谢、内吞作用通路、次级代谢产物生物合成和 MAPK 信号通路, 进而影响菌丝和孢子生长发育及致病性等生物学过程。

**关键词:** 白垩病, 蜜蜂球囊菌, 菌丝, 孢子, 环状 RNA, 微小 RNA, 竞争性内源 RNA

\*基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (CARS-44-KXJ7); 福建省教育厅中青年教育科研项目 (JAT170158); 福建农林大学硕士生导师团队项目 (郭睿); 福建省病原真菌与真菌毒素重点实验室 (福建农林大学) 开放课题

\*\*第一作者, E-mail: jhb18047513706@163.com

\*\*\*通讯作者, E-mail: ruiguo@fafu.edu.cn

# 微小 RNA 介导意大利蜜蜂工蜂与东方蜜蜂微孢子虫之间的 跨界调控\*

范小雪<sup>1\*\*</sup> 张文德<sup>1</sup> 熊翠玲<sup>1,2</sup> 郑燕珍<sup>1</sup> 陈大福<sup>1,2\*\*\*</sup> 郭睿<sup>1,2\*\*\*</sup>

(1. 福建农林大学动物科学学院蜂学学院, 福州 350002; 2. 福建农林大学蜂疗研究所, 福州 350002)

**摘要:** 对意大利蜜蜂 *Apis mellifera ligustica* 工蜂中肠差异表达 miRNA (DEmiRNA) 靶向的东方蜜蜂微孢子虫 *Nosema ceranae* DEmRNA 及病原 DEmiRNA 与宿主 DEmRNA 靶向关系进行分析和探讨, 以期揭示 DEmiRNA 介导的宿主与病原间的跨界调控。通过比较病原孢子接种 7 d (AmT1) 和 10 d (AmT2) 及未接种的宿主中肠 (AmCK1 和 AmCK2) 数据得到宿主的 DEmiRNA 和 DEmRNA, 比较感染宿主的病原 (NcT1 和 NcT2) 及孢子 (NcCK) 数据得到病原的 DEmiRNA 和 DEmRNA。预测宿主 DEmiRNA 靶向的病原 DEmRNA 及病原 DEmiRNA 靶向的宿主 DEmRNA, 对 DEmRNA 注释以筛选病原毒力相关 DEmRNA 及与其靶向的宿主 DEmiRNA, 宿主免疫和代谢相关 DEmRNA 及与其靶向的病原 DEmiRNA。AmCK1 vs AmT1 和 AmCK2 vs AmT2 中的 47 和 52 个上调 miRNA 分别靶向 NcCK vs NcT1 和 NcCK vs NcT2 中 584 和 587 条下调 mRNA。宿主上调 miRNA 靶向病原 RNAi 途径、孢壁蛋白、蓖麻毒素 B 凝集素、糖酵解/糖异生途径及 MAPK 信号通路相关的下调 mRNA。NcCK vs NcT1 中 77 个上调和 52 个下调 miRNA 可分别靶向宿主的 118 条下调和 135 条上调 mRNA。NcCK vs NcT2 中 52 条上调和 49 条下调 miRNA 可分别靶向 97 条下调和 210 条上调 mRNA。病原 miRNA 潜在负调控宿主氧化磷酸化相关的上调 mRNA, 胞吞、溶酶体、自噬和细胞凋亡等免疫相关的下调 mRNA。东方蜜蜂微孢子虫感染意大利蜜蜂工蜂的过程中, 病原的 DEmiRNA 可能跨界调控宿主的 DEmRNA 以抑制其免疫防御并促进其能量代谢, 宿主的 DEmiRNA 通过抑制或降解病原的毒力因子相关 DEmRNA 潜在影响其感染与增殖。

**关键词:** 意大利蜜蜂, 东方蜜蜂微孢子虫, 跨界调控, microRNA

\*基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项资金 (CARS-44-KXJ7); 福建省教育厅中青年教师教育科研项目 (JAT170158); 福建农林大学杰出青年科研人才计划项目 (xjq201814); 福建农林大学硕士生导师团队项目 (郭睿)

\*\*第一作者, E-mail: imfanxx@163.com

\*\*\*共同通讯作者, E-mail: ruiguo@fafu.edu.cn; dfchen826@fafu.edu.cn

# 东方蜜蜂微孢子虫基因的可变剪接及可变腺苷酸化解析\*

范小雪<sup>1\*\*</sup> 范元婵<sup>1</sup> 熊翠玲<sup>1,2</sup> 郑燕珍<sup>1</sup> 付中民<sup>1,2</sup>

陈大福<sup>1,2\*\*\*</sup> 郭睿<sup>1,2\*\*\*</sup>

(1. 福建农林大学动物科学学院蜂学学院, 福州 350002; 2. 福建农林大学蜂疗研究所, 福州 350002)

**摘要:** 基于已获得的全长转录组数据对东方蜜蜂微孢子虫 *Nosema ceranae* 基因的可变剪接 (Alternative splicing, AS) 和可变多聚腺苷酸化 (Alternative polyadenylation, APA) 进行分析。通过 Astalavista 软件鉴定东方蜜蜂微孢子虫基因的 AS 事件类型。采用 TAPIS pipeline 对东方蜜蜂微孢子虫基因的 APA 位点进行鉴定。利用 MEME 软件分析所有全长转录本的 poly (A)剪接位点上游 50 bp 的序列特征并鉴定 motif。共鉴定出发生于 5 个基因的 5 次 AS 事件,包括 1 次可变供体位点 (Alternative donor site, ADS)和 4 次内含子保留 (Intron retention, IR)。鉴定出 233 个基因发生 APA, 其中含有 1 个 poly (A)剪接位点的基因数量最多 (143, 61.37%)。序列特征分析结果显示, 东方蜜蜂微孢子虫全长转录本的 3' UTR 的上下游表现出明显的碱基倾向性, U 在 3' UTR 的上游富集, 而 A 在 3' UTR 的下游富集。此外, 在东方蜜蜂微孢子虫全长转录本的 poly (A)剪接位点上游鉴定到 3 个 motif (AAUAAA、UGAUGC 和 GCGACG)。研究结果揭示了东方蜜蜂微孢子虫转录组的复杂性, 为完善现有的东方蜜蜂微孢子虫基因组和转录组注释提供了有益信息, 也为深入探究 AS 和 APA 在东方蜜蜂微孢子虫的基因表达调控中的作用提供了基础。

**关键词:** 第三代测序技术, 全长转录组, 东方蜜蜂微孢子虫, 可变剪接, 可变腺苷酸化

\*基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (CARS-44-KXJ7); 福建省自然科学基金项目 (2018J05042); 福建省教育厅中青年教师教育科研项目 (JAT170158); 福建农林大学杰出青年科研人才计划项目 (xjq201814)

\*\*第一作者, E-mail: imfanxx@163.com

\*\*\*共同通讯作者, E-mail: ruiguo@fafu.edu.cn; dfchen826@fafu.edu.cn

# 基于纳米孔全长转录组数据完善东方蜜蜂 微孢子虫的基因组注释\*

范元婵<sup>1\*\*</sup> 蒋海宾<sup>1</sup> 熊翠玲<sup>1,2</sup> 郑燕珍<sup>1,2</sup> 付中民<sup>1,2</sup> 徐国钧<sup>1,2</sup>  
陈大福<sup>1,2</sup> 郭睿<sup>1,2\*\*\*</sup>

(1. 福建农林大学动物科学学院蜂学学院, 福州 350002; 2. 福建农林大学蜂疗研究所, 福州 350002)

**摘要:** 利用已获得的全长转录组数据对现有的东方蜜蜂微孢子虫 *Nosema ceranae* 参考基因组的基因序列和功能注释进行完善。采用 TransDecoder 软件预测东方蜜蜂微孢子虫基因的开放阅读框 (open reading frame, ORF) 及相应的氨基酸。利用 gffcompare 软件将全长转录本与参考基因组注释的转录本进行比较, 对基因组注释的基因结构信息进行优化。利用 MISA 软件鉴定长度在 500 bp 以上的全长转录本的简单重复序列 (simple sequence repeat, SSR) 位点。通过 Blast 工具将鉴定到的新基因和新转录本比对 Nr、KOG、eggNOG、GO 和 KEGG 数据库, 从而获得功能注释。共预测出 2 353 个完整 ORF, 其中长度分布在 0~100 个氨基酸的 ORF 最多, 占总 ORF 数的 68.66%。共对东方蜜蜂微孢子虫的 2 340 个基因进行了结构优化, 其中 5'端延长的基因有 1 182 个, 3'端延长的基因有 1 158 个。共鉴定到 1 658 个 SSR, 其中单碱基重复、二碱基重复、三碱基重复、四碱基重复的数量分别为 1 622、23、7 和 6 个。共鉴定出 954 个新基因, 其中分别有 951、333、371、422 和 321 个新基因可注释到 Nr、KOG、eggNOG、GO 和 KEGG 数据库。此外, 还鉴定出 6 164 条新转录本, 其中分别有 6 141 条、2 808 条、2 932 条、3 196 条和 2 585 条新转录本可注释到 Nr、KOG、eggNOG、GO 和 KEGG 数据库。本研究利用已获得的全长转录组数据对东方蜜蜂微孢子虫的完整 ORF 进行了预测, 对参考基因组已注释的基因进行了结构优化, 对未注释的 SSR 位点进行了挖掘, 此外还鉴定到大量未注释的新基因和新转录本并对它们进行了功能注释。研究结果较好地完善了现有的东方蜜蜂微孢子虫的基因组注释。

**关键词:** 纳米孔测序, 全长转录本, 转录组, 基因组, 蜜蜂, 东方蜜蜂微孢子虫

\*基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (CARS-44-KXJ7); 福建省自然科学基金项目 (2018J05042); 福建省教育厅中青年教师教育科研项目 (JAT170158); 福建农林大学杰出青年科研人才计划项目 (xjq201814)

\*\*第一作者, E-mail: fanyc19980201@126.com

\*\*\*通讯作者, E-mail: ruiguo@fafu.edu.cn

# 蜜蜂球囊菌中长链非编码 RNA 的调控作用\*

范元婵<sup>1\*\*</sup> 王杰<sup>1</sup> 熊翠玲<sup>1,2</sup> 郑燕珍<sup>1</sup> 付中民<sup>1,2</sup> 陈大福<sup>1,2</sup> 郭睿<sup>1,2\*\*\*</sup>

(1. 福建农林大学动物科学学院蜂学学院, 福州 350002;

2. 福建农林大学蜂疗研究所, 福州 350002)

**摘要:** 基于前期获得的蜜蜂球囊菌(*Ascosphaera apis*)菌丝和孢子混合样品的高质量 lncRNA 组学数据进行 lncRNA 的顺式(*cis*)作用、反义 lncRNA 作用和竞争性内源 RNA (competing endogenous RNA, ceRNA)作用的分析 and 探讨, 进而揭示 lncRNA 的潜在功能。根据 lncRNA 基因在染色体上的位置预测其上下游 100 kb 以内的编码基因, 并使用 Blast 软件将上下游基因比对到 GO 和 KEGG 数据库以获得功能和通路注释。采用 LncTar 软件对反义 lncRNA 的靶 mRNA 进行预测, 并使用 Blast 软件将上述靶 mRNA 比对到 KEGG 和 eggNOG 数据库。利用 TargetFinder 软件预测 lncRNA 靶向的 miRNA 及 miRNA 靶向的 mRNA, 进而通过 Cytoscape v3.7.1 软件进行调控网络的可视化。利用 RT-PCR 对调控网络中的 lncRNA、靶 miRNA 和靶 mRNA 进行表达验证。共预测出 371 个 lncRNA 的 5 852 个上下游基因, 可注释到细胞进程等 48 个功能条目及新陈代谢途径等 121 条通路。7 个 lncRNA 与 7 个靶 mRNA 存在序列互补关系, 仅 gene3444 在 KEGG 数据库注释为核孔复合体蛋白 An-Nup120 和假定蛋白。共预测出 227 个 lncRNA 与 73 个 miRNA 之间存在靶向结合关系, 其中多数 lncRNA(79.02%)仅能结合 1-2 个 miRNA, 部分 miRNA 可被多个 lncRNA 结合; ceRNA 调控网络分析结果显示氧化磷酸化通路相关的 222 个 lncRNA 靶向 78 个 miRNA 及 50 个 mRNA, MAPK 信号通路相关的 222 个 lncRNA 靶向 62 个 miRNA 及 46 个 mRNA。MSTRG.6220.4、MSTRG.4497.1 和 MSTRG.2597.1 等 lncRNA 可能通过顺式作用和 ceRNA 作用调节蜜蜂球囊菌的生长发育、物质能量代谢以及环境适应等生物学过程; MSTRG.5393.1 可能作为反义 lncRNA 调控蜜蜂球囊菌的核孔复合体的蛋白合成。

**关键词:** 蜜蜂球囊菌, 长链非编码 RNA, 顺式作用, 反义 lncRNA, 竞争性内源 RNA

\*基金项目: 国家自然科学基金项目(31702190); 国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目(CARS-44-KXJ7)、福建省自然科学基金项目(2018J05042); 福建省教育厅中青年教师教育科研项目(JAT170158); 福建农林大学杰出青年科研人才计划项目(xjq201814)

\*\*第一作者, E-mail: fanyc19980201@126.com

\*\*\*通讯作者, E-mail: ruiguo@fafu.edu.cn

# 小地老虎携带病毒种类鉴定与遗传多样性

杨帆 吴孔明

(福建农林大学生命科学学院, 福州 350000)

**摘要:** 协同进化过程中, 病毒与昆虫建立了从致病性到互利共生等多种互作关系, 这对双方的个体生命周期以及种群动态都起到了重要的作用。小地老虎 (*Agrotis ipsilon*) 是全球性的农林业重大害虫之一, 取食寄主广泛, 与人类赖以生存的农作物接触十分频繁。开展鉴定小地老虎携带病毒种类以及解析病毒群体遗传关系等研究, 对于绿色防控农林害虫具有战略性意义。主要研究结果如下:

1. 利用 938 份小地老虎样品构建了 2 组病毒宏基因组数据库, 揭示了小地老虎携带病毒群落组成。高通量测序结果显示, 注释到病毒的 ORFs 序列占比 37.48%, 分为 20 个病毒科 12 个病毒属, 其中不包括双链 DNA 细菌噬菌体病毒属。

2. 从高通量测序数据病毒 contigs 中寻找到了 17 种新病毒。利用田间混合样品, 重点对其中 16 种新病毒进行 PCR 检测, 鉴定出 8 种新病毒, 进一步克隆获得 2 种环状单链 DNA 病毒和 2 种线状单链 RNA 病毒全基因组序列。

3. 利用小地老虎成虫样品进行 4 种新病毒感染率检测, 结果显示我们发现并命名的 AiGmV1、AiGkV、AiRV1 以及 AiNV 感染率依次为 6.85% (15/219)、16.8% (54/322)、78.9% (464/588) 和 8.86% (42/474)。此外, 通过上述 4 种病毒的共感染分析发现, 2 种病毒共感染率 20.9% (43/206), 3 种病毒共感染率 1.5% (3/206)。

4. 通过基于 399 条高感染率的 AiRV1 分离物外壳蛋白基因序列的遗传多样性参数评估, 发现 AiRV1 群体总体上呈现较低的遗传多样性, 不同采样地区的 AiRV1 分离物间没有明显的遗传分化, 分离物存在一种共有单倍型且广泛分布, 表明基因交流未受到限制。

综上所述, 首次鉴定了小地老虎携带病毒的种类, 揭示小地老虎可能是传播和扩散病毒的载体昆虫, 为农业害虫的防控提供新方向; 分析了不同因素对 3 种病毒感染率的影响, 对未知病毒的传播与扩散起到预警作用; 阐明了 AiRV1 群体的遗传多样性和遗传结构以及基因流在 AiRV1 遗传关系中的作用, 对于制定综合防治害虫策略提供重要信息。

**关键词:** 小地老虎, 病毒多样性, 病毒宏基因组学, 遗传进化

# 蚜虫中布尼亚病毒 ABV-1 的发掘及互作关系研究

安欣<sup>1,2</sup> 顾巧莹<sup>1,2</sup> 王进军<sup>1,2</sup> 牛金志<sup>1,2\*</sup>

(1. 西南大学植物保护学院, 重庆 400716; 2. 西南大学农业科学研究院, 重庆 400716)

**摘要:** 蚜虫是重要的农业害虫及植物病毒传播媒介, 与多种微生物(细菌、真菌、病毒)互作关系复杂。随着高通量测序技术的应用, 大量的蚜虫 RNA 病毒被发掘, 但许多 RNA 病毒与宿主的关系尚不明晰。本研究通过高通量测序技术对 10 种蚜虫进行 RNA 病毒的挖掘, 为认识蚜虫 RNA 病毒的类型及解析病毒-蚜虫互作关系提供基础。(1) 利用高通量测序技术挖掘蚜虫病毒及分析病毒源小 RNA 分布。(2) 利用 PCR 技术在 10 种蚜虫中检测布尼亚病毒带毒情况。(3) 比较研究豌豆蚜 ABV-1 高低品系 (ABV-1<sup>high</sup> 和 ABV-1<sup>low</sup>) 生理参数。高通量测序及序列分析结果显示, 在 10 种蚜虫中共挖掘得到 18 种疑似病毒, 其中 14 种病毒诱导了宿主 RNAi 免疫通路响应; 并在 4 种蚜虫转录组中比对到布尼亚病毒 (ABV-1) 序列。通过 PCR 检测蚜虫带毒情况结果显示, 10 种所测蚜虫均携带该病毒。在豌豆蚜种群中, 该病毒垂直传播效率达 100%, 且存在水平传播中间介质(叶片)的可能性。豌豆蚜 ABV-1<sup>high</sup> 和 ABV-1<sup>low</sup> 品系生理参数比较结果显示, 高滴度 ABV-1 感染缩短豌豆蚜若蚜发育历期并增加成蚜产蚜量, 同时 ABV-1 滴度的高低显著影响豌豆蚜体内脂质及蛋白质含量。本研究在 10 种蚜虫中发现了 18 种新型 RNA 病毒, 其中 14 种可诱导宿主 RNAi 免疫通路响应。有趣的是, ABV-1 可能是存在于多种蚜虫体内的共生布尼亚病毒。我们的研究为调查布尼亚病毒-蚜虫相互作用提供了新的见解, 为进一步探究蚜虫病毒与免疫系统的关系提供了新的模型。

**关键词:** 共生病毒, 豌豆蚜, RNA 病毒, RNA 干扰

\*通讯作者, E-mail: jinzhiniu@swu.edu.cn

# 茶黑刺粉虱内共生菌 *Wolbachia* 的分子检测\*

张勇<sup>1,2\*\*</sup> 刘松<sup>1</sup> 高天<sup>1</sup> 龙雁华<sup>2</sup> 杨云秋<sup>1\*\*\*</sup>

(1.安徽农业大学, 茶树生物学与资源利用国家重点实验室, 合肥 230036;

2. 安徽农业大学生命科学学院, 合肥 230036)

**摘要:** 茶黑刺粉虱 *Aleurocanthus spiniferus* Quaintanca 是茶树主要的害虫之一, 且 *Wolbachia* 是常见的昆虫次级共生菌。本文旨在揭示茶黑刺粉虱种群共生菌 *Wolbachia* 的感染情况, 明确 *Wolbachia* 的感染类型及分类地位。通过形态鉴定和PCR 扩增COI 序列并测序分析的分子鉴定手段对野外采集的茶黑刺粉虱进行种类鉴定; 通过PCR 扩增 *Wolbachia* 的外膜蛋白基因 (wsp) 序列, 检测茶黑刺粉虱体内 *Wolbachia* 的感染情况; 通过PCR 扩增和多位点序列分型 (multilocus sequence typing, MLST) 对检测到的茶黑刺粉虱体内的 *Wolbachia* 进行同源性分析。所采集到的粉虱样品均为茶黑刺粉虱 *Aleurocanthus spiniferus* Quaintanca; 所有检测的茶黑刺粉虱均感染 *Wolbachia*; 依据wsp 分型方法, 感染的 *Wolbachia* 属于B 超组Con 亚组; 依据MLST 分型方法, 感染的 *Wolbachia* 属于B 超组, 对应的MLST 序列型为ST634。本研究首次证实茶黑刺粉虱感染内共生菌 *Wolbachia*, 分子分型方法揭示用于检测的茶黑刺粉虱感染B 家族的 *Wolbachia*。本研究为茶黑刺粉虱生物防治提供了新的理论基础, 并未进一步探明 *Wolbachia* 与茶黑刺粉虱互作提供了研究材料。

**关键词:** 茶黑刺粉虱, COI, MLST, 系统发育, *Wolbachia*

\*基金项目: 国家自然科学基金项目 (31870635)

\*\*第一作者, E-mail: xiaoguigui@ahau.edu.cn

\*\*\*通讯作者, E-mail: yyq\_lyh@anau.edu.cn

# *Heterorhabditis megidis* REDY63 品系及其共生菌的性质研究

刘子琦 韩岚岚 赵奎军 张傲楠 周文静 吴冬雪 刘天莹 许玲

(东北农业大学农学院, 哈尔滨 150000)

**摘要:** 探究 *Heterorhabditis megidis* REDY63 品系及其共生细菌的性质, 研究了该品系的储存和不同环境对其扩散能力及侵染能力的影响, 并进一步研究其共生菌在杀虫活性方面的性质。以提出高效储存条件和更为适合的线虫施用环境, 为线虫技术的应用提供依据, 该结果对丰富昆虫病原线虫及其共生菌生物学性质具有重要学术价值和实践意义。以 REDY63 品系线虫为研究对象, 探究在不同保存温度、浓度、pH、介质下研究线虫的最佳保存条件。采用沙柱法研究了有无寄主、不同土壤温度、不同土壤类型对昆虫病原线虫扩散能力的影响。以草地贪夜蛾 3 龄幼虫和蛹为寄主, 探究不同浓度、温度、土壤类型下对 REDY63 品系侵染能力的影响。并对共生菌生物学特性及杀虫活性进行研究。REDY63 品系的最佳保存浓度、温度、pH、介质分别为 4000 IJs/ml、10 ℃、8.8-8.9、无菌蒸馏水。并于 25 ℃ 沙质土中扩散能力最强, 且当寄主存在时扩散距离最远。相同剂量下, 浓度越高对草地贪夜蛾 3 龄幼虫及蛹的致病力越快, 且 25 ℃ 为 REDY63 最适侵染温度, 沙质土为其最佳传播介质。其共生菌对卡那霉素无抗性、对氨基青霉素有抗性。并对斜纹夜蛾及草地贪夜蛾老熟幼虫有胃毒作用, 对大蜡螟老熟幼虫有血腔毒力作用。 *Heterorhabditis megidis* REDY63 品系及其共生细菌均有一定的杀虫能力, 并为该品系线虫提供了更加高效的储存条件, 在田间施用时, 应选择适宜的环境条件, 并根据不同条件设计相应的方案。

**关键词:** 昆虫病原线虫, 共生菌, 储存, 扩散, 致病力

# NimB2 和 TEP3 在红棕象甲血细胞中对 *Bacillus thuringiensis* 和 *Serratia marcescens* 的吞噬机理研究\*

谭安然<sup>1,2\*\*</sup> 李鹏举<sup>1,2</sup> 侯有明<sup>1,2\*\*\*</sup>

(1. 闽台作物害虫生态防治国家重点实验室; 2. 福建农林大学福建省昆虫生态重点实验室, 福州 350002)

**摘要:** 红棕象甲 (RPW) 是我国危害最大的棕榈害虫。尽管许多致病菌是众所周知的红棕象甲生物防治剂, 但关于昆虫免疫系统对抗这些细菌的信息是有限的。为了确定红棕象甲中哪些血细胞受体基因参与了病原体的吞噬作用, 我们首先在红棕象甲基因组中鉴定了 *Nimrod* 家族 (*Draper*、*NimB1*、*NimB2*、*NimB3*、*NimC*) 和 *TEP* 家族 (*TEP1*、*TEP2*、*TEP3* 和 *TEP4*) 共 9 个基因, 与赤拟谷盗和黑腹果蝇的吞噬受体有关。其中, 通过荧光定量 PCR, 在接种灭活病原体 *Bacillus thuringiensis* 12 和 24 h 后, *NimB2* 和 *TEP3* 在 5 龄幼虫血淋巴中的表达显著上调。然而, 在 24 h 接种 *Serratia marcescens* 的处理中, 只有 *NimB2* 上调。在注射病原体相关分子模式 (PAMP: 肽聚糖和脂多糖) 的幼虫中, *NimB2* 和 *TEP3* 上调表达。此外, 合成的 *NimB2* 和 *TEP3* 的 dsRNA 成功干扰原位基因表达, 干扰效率超过 80%。我们的结果认为: *NimB2* 和 *TEP3* 血细胞受体基因是由细菌病原体的 PAMP 特异性诱导的, 这可能会激活后续的免疫信号通路。

**关键词:** 红棕象甲, 入侵性害虫, 免疫反应, 细胞免疫, 吞噬细胞受体基因

\*基金项目: 国家自然科学基金 (U1705223, 31872033)

\*\*第一作者, E-mail: 2504237704@qq.com

\*\*\*通讯作者, E-mail: ymhou@fafu.edu.cn

# 利用基因驱动改变和抑制种群的挑战和机遇

Jackson Champer\*

(北京大学生命科学学院, 北京, 100871)

**摘要:** 基因驱动系统能够使特定的等位基因偏向性地遗传给后代,并在整个种群中迅速传播。该系统可以通过直接抑制媒介昆虫或其他物种(例如入侵物种)的种群数目,或者在种群中快速传播抗病基因来阻断疾病的传播。基因驱动的过程需要依赖于 DNA 的双链断裂和同源定向修复。然而,当生物体通过末端连接而不是同源定向修复来修复 DNA 的双链断裂时,抗性等位基因就会产生,这会阻碍驱动等位基因的传播。目前在蚊子中建立的抑制型归巢驱动系统可能克服了这一限制,但根据计算模型的预测,这种驱动系统可能不会在空间结构化的自然种群中取得成功——在这个种群中,“追逐”现象会导致带有驱动和野生型等位基因的个体长期持续并混乱地存在于种群中。为了克服修饰驱动中的抗性等位基因形成,我们采用多种方法,最终在罩笼实验中成功地使所构建的归巢驱动系统快速传播到整个种群的所有个体中。另一个获得成功的驱动系统则是使用新型的“毒素-解毒剂”机制来传播驱动等位基因,这可以将修饰或抑制限制在特定的目标种群中。我们的工作将为进一步构建绿色安全的媒介昆虫种群防控技术用于阻断疾病的传播提供重要的遗传工具。

**关键词:** 基因驱动, 害虫种群防控, 抗性等位基因, 驱动限制

\*通讯作者, E-mail: jchamper@pku.edu.cn

## 景颇胡蜂药酒制备改良与应用前景

党菱婧<sup>1</sup> 郭云胶<sup>2</sup>

(1. 德宏职业学院; 2. 德宏师范高等专科学校, 云南德宏州 678400)

**摘要:** 纲膜翅目胡蜂科 胡蜂 在自然界中分布很广, 胡蜂蜂毒具有丰富的药理作用, 胡蜂泡酒是治疗风湿性关节炎的景颇族民族药。近年来, 随着胡蜂人工养殖的兴起, 胡蜂药酒产品层出不穷, 质量无法保证。本文介绍了以胡蜂为原料的、药理作用相近的部分中草药, 通过合适的比例和方案制备胡蜂药酒的方法, 旨在为胡蜂药酒制备提供新思路、新方法。

**关键词:** 胡蜂, 药酒, 制备