

叉角厉蝽唾液腺转录组及差异分析*

高平, 廖贤斌, 李丽芳, 兰明先, 赵航, 陈斌, 吴国星, 高熹**

(云南农业大学 植物保护学院, 云南 昆明 650201)

摘要:【目的】叉角厉蝽 [*Eocanthecona furcellata* (Wolff)] 是许多鳞翅目、鞘翅目和半翅目害虫的捕食性天敌, 在其取食的过程中, 唾液起到了至关重要的作用。为了解叉角厉蝽唾液腺的转录组特征, 深入地研究唾液腺中基因表达的情况。【方法】利用 Illumina 测序技术检测成虫和三龄若虫唾液腺差异基因表达谱, 并采用聚类及功能注释对检测结果进行分析。【结果】共获得唾液腺 unigenes 序列 26 022 条, 平均长度 1 365 bp。通过同源序列比对搜索, 14 057 条 unigenes 注释至 Nr、Nt、Pfam、Swiss-prot、GO、KOG 和 KEGG 数据库。差异基因数字表达谱分析发现 3 437 条差异表达基因, 其中成虫和三龄若虫唾液腺相比有 1 871 条 unigenes 上调, 1 566 条 unigenes 下调, 同时鉴定了 3 个组织蛋白酶 B (Cathepsin B) 和 3 个神经内分泌蛋白 7b2 (Neuroendocrine protein 7b2) 基因。【结论】本研究丰富了半翅目昆虫唾液腺的分子生物学数据, 为后续唾液分泌相关的功能基因研究提供一定的数据支持。

关键词: 叉角厉蝽; 转录组; 差异表达基因

中图分类号: Q 963

文献标志码: A

文章编号: 1004-390X (2021) 01-0029-10

Transcriptome and Difference Analysis of *Eocanthecona furcellata* (Wolff)

GAO Ping, LIAO Xianbin, LI Lifang, LAN Mingxian, ZHAO Hang,
CHEN Bin, WU Guoxing, GAO Xi

(College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: [Purpose] *Eocanthecona furcellata* (Wolff) is a natural predatory enemy widely distributed in tropical and subtropical regions, which is a potential biocontrol factor for many pests of Lepidoptera, Coleoptera and Hemiptera. Saliva plays a key role in the process of feeding. In order to understand the transcriptome characteristics and further study of gene expression in the salivary gland of *E. furcellata*. [Method] The differential gene expression profiles of adult and third-instar nymph salivary glands were detected by Illumina sequencing technology, and the results were analyzed by clustering and functional annotation. [Result] A total of 26 022 sequences of salivary gland unigenes were obtained, with a mean length of 1 365 bp. By homologous sequence alignment search, 14 057 unigenes were annotated to the Nr, Nt, Pfam, Swiss-prot, GO, KOG and KEGG databases. Differential gene expression profiling revealed 3 437 differentially expressed genes, of which 1 871 unigenes were up-regulated and 1 566 unigenes were down-regulated in adult and third-instar

收稿日期: 2019-11-06

修回日期: 2020-04-04

网络首发时间: 2021-01-13 16:03:58

*基金项目: 国家重点研发计划项目 (2018YFD0200703, 2018YFD0200308); 云南省基础研究计划项目 (202001AT070139); 云南农业大学学生科技创新创业行动基金 (2020ZKY210)。

作者简介: 高平 (1996—), 女, 云南宣威人, 在读硕士研究生, 主要从事害虫生物防治研究。

E-mail: gaoping65432@163.com

**通信作者 Corresponding author: 高熹 (1980—), 女, 福建福州人, 博士, 副教授, 主要从事害虫生物防治研究。E-mail: chonchon@163.com

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/53.1044.S.20210112.1341.004.html>



nymph salivary glands, at the same time, three cathepsin B and three neuroendocrine protein 7b2 genes were identified. [**Conclusion**] This study enriched the molecular biology data of the Hemiptera, and provided some data support for the study of functional genes related to salivary secretion.

Keywords: *Eocanthecona furcellata* (Wolff); transcriptome; differentially expressed genes

可持续农业的发展, 更加重视害虫的综合治理 (integrated pest management), 利用天敌对作物害虫进行生物控制是其中重要的环节。常见的天敌有捕食性昆虫、寄生性昆虫和昆虫病原体。在作物生态系统中, 捕食性昆虫和寄生蜂是大多数害虫的天然生物控制因子^[1]。叉角厉蝽 [*Eocanthecona furcellata* (Wolff)] 属于半翅目 (Hemiptera) 蝽科 (Pentatomidae) 益蝽亚科 (Asopinae) 昆虫, 其若虫和成虫的捕食量大, 捕食的范围很广, 尤其对鳞翅目的害虫具有较强的捕食能力, 是一种重要的捕食性天敌^[2-5]。叉角厉蝽易在实验室饲养形成种群, 它的捕食潜在在东南亚、日本、印度以及中国台湾地区等都有报道^[6-7]。

近年来, 高通量测序技术已应用于昆虫唾液的研究与鉴定。通过高通量测序技术可以获得唾液腺的转录组, 从基因层面研究唾液腺的特征与功能, 并从转录水平预测唾液中的潜在分泌蛋白。昆虫的唾液主要由唾液腺分泌, 通过分析唾液腺的表达基因来预测唾液蛋白成分是研究昆虫唾液的有效手段之一。目前, 有报道采用转录组和蛋白组等手段分析烟粉虱、褐飞虱、灰飞虱和白背飞虱等唾液腺和唾液蛋白组分^[8-11]。在这些昆虫唾液腺中发现很多与蛋白合成、食物消化和解毒等相关的基因。然而, 在捕食性昆虫中, 有学者对小花蝽 (*Orius laevigatus*) 唾液腺中差异基因表达谱和猎蝽科昆虫有毒唾液的新型肽和唾液中的毒素进行了研究^[12-14]。

目前, 国内对该蝽的研究主要集中在食性、生物学特性、人工饲料和捕食功能研究方面^[15-17], 国外对该蝽的研究主要集中在生物防治、生活史和捕食功能等方面^[18]。近年来, 针对与叉角厉蝽同属于一个亚科的跗蝽 (*Arma chinensis*) 研究报道较多, 王燕等^[19]研究了跗蝽对草地贪夜蛾 (*Spodoptera frugiperda*) 的生防潜力, 苗少明^[20]对跗蝽进行了基因组测序, 并对跗蝽和茶翅蝽 (*Halyomorpha halys*) 的唾液腺进行了转录组测序。益蝽亚科是蝽科中较为特化的类群, 是由植

食性种类分化形成的捕食性种类, 虽然叉角厉蝽和跗蝽同属于益蝽亚科, 但是近几年来国内尚未有关于叉角厉蝽唾液腺的研究报道。

捕食性蝽类将刺吸式口器插入猎物体内并分泌唾液, 导致猎物快速麻痹和死亡^[21], 之后再吸食猎物^[22-23]。引起猎物麻痹和死亡的原因是唾液腺产生的分泌物释放到猎物内部产生的作用^[24]。据报道组织蛋白酶 B (Cathepsin B) 和神经内分泌蛋白 7b2 (Neuroendocrine protein 7b2) 基因在小花蝽的捕食中起重要作用^[14]。然而, 叉角厉蝽唾液分泌物中引起猎物麻痹和死亡的唾液化合物仍然是未知的。因此, 对唾液腺中基因表达的情况进行深入的研究, 将有助于阐明唾液毒素分泌的分子机制。本研究的目的是对叉角厉蝽的唾液腺基因进行系统的研究, 并确定与唾液腺毒素分泌有关的潜在基因, 探究唾液腺毒素的分泌机制。期待发现对昆虫取食与猎物相互作用必不可少的唾液腺相关基因, 为后续的基因调控研究和生物源农药开发打下基础。

本研究利用 Illumina 测序技术对叉角厉蝽的三龄若虫和成虫唾液腺进行高通量转录组测序, 将获得的序列信息进行拼接和组装, 进行基因功能注释和功能分类, 并对叉角厉蝽三龄若虫和成虫唾液腺的基因差异表达进行分析, 为进一步挖掘基因、探究基因功能和分析代谢途径等奠定基础。

1 材料与方法

1.1 昆虫采集与饲养

叉角厉蝽采集于云南省元江县。带回室内采用笼罩式饲养 [(27±1) °C, RH 60%~80%, 光周期 14L : 10D], 每日饲喂黄粉虫 (*Tenebrio molitor*), 建立实验室种群。

1.2 总 RNA 提取与质检

将叉角厉蝽三龄若虫和成虫 (雄性 : 雌性 = 1 : 1) 置于 -4 °C 冰箱中 10 min, 降低虫体活动能力。用剪刀把叉角厉蝽所有触角、足、口器和翅

都剪除后, 立即放入置于解剖镜下的培养皿, 在培养皿中加入 PBS 缓冲液, 以没过虫体为宜。使用解剖镊和解剖针在显微镜下解剖获得叉角厉蝽唾液腺, 将其移至盛有 Trizol 的 1.5 mL 离心管中, 研磨并置于-80 ℃ 的冰箱中保存。三龄若虫和成虫各设 3 次重复, 每个重复解剖 80 个唾液腺。采用 Trizol Reagent 的方法提取得到上述样品的总 RNA, RNA 提取后分别用琼脂糖凝胶电泳和 NanoPhotometer spectrophotometer 检测 RNA 的纯度, 检测合格之后寄送至北京诺禾致源生物科技有限公司进行转录组文库构建和测序。

1.3 cDNA 文库构建与测序

取 1.5 μg 质检合格的 RNA 样品进行文库构建, 然后使用 Agilent 2100 bioanalyzer 对文库的 insert size 进行检测。库检合格后, 把不同文库按照有效浓度及目标下机数据量的需求 pooling 后进行 Illumina 测序。

1.4 转录组拼接和功能基因注释

测序得到的原始数据要去除序列接头、poly-N 和低质量序列, 才能获得高质量的 Clean Data, 同时计算 Q20、Q30 和 GC 含量。获得高质量的测序数据再利用 Trinity 软件进行组装^[25]。将组装得到的 unigenes 使用 BLAST 软件在七大数据库中进行比对, 获得功能基因的注释信息。

1.5 关键基因鉴定

为了鉴定叉角厉蝽唾液腺中引起猎物死亡的

关键基因, 在叉角厉蝽唾液腺 NR 注释数据库里使用基因全称搜索 BAEK 等^[14]报道的组织蛋白酶 B 和神经内分泌蛋白 7b2 基因, 并在转录组组装 (transcriptome assembly) 数据库里查找编码这些基因的序列。

2 结果与分析

2.1 转录组序列分析和组装

利用 Illumina 测序平台对叉角厉蝽唾液腺转录组进行测序, 每个样本都生成超过 7.80 GB 的高质量数据, 样本的 GC 含量不低于 43.71%, 测得数据 Q20 均大于 97.00%, 碱基 Q30 百分比不少于 92.00%, 表明测序结果高度准确, 可以用于后期的拼接组装 (表 1)。

获得的 clean reads 进行组装 (表 2), 共得到 51 845 个转录本 (transcripts), 序列信息达到 81 004 577 bp, 平均长度为 1 562 bp, N50 长度为 2 615 bp。在转录本基础上进一步组装获得 26 022 条功能基因 (unigenes), 长度为 35 520 646 bp, N50 长度为 2 298 bp; 其中, 长度超过 1 kb 的 unigenes 有 10 634 条, 占 40.87%。

2.2 基因功能注释

unigenes 在七大数据库中比对得到功能信息 (表 3)。在组装获得的 26 022 条 unigenes 中成功注释 14 057 条, 注释率为 54.01%。其中, NR 注释到的 unigenes 最多 (12 514, 48.09%), 之后依

表 1 叉角厉蝽转录组测序产量统计

Tab. 1 Output statistics of *E. furcellata* transcriptome sequencing

样本 samples	原始序列 raw reads	高质量 reads 数 clean reads	高质量数据/GB clean bases	错误率 error rate	Q20 /% Q20	Q30 /% Q30	GC 含量/% GC
成虫 adult	53 040 819	52 042 109	7.80	0.03	97.37	92.65	44.34
若虫 nymph	54 193 868	53 125 640	7.97	0.03	97.45	92.80	43.71

表 2 叉角厉蝽转录组组装质量

Tab. 2 Quality for *de novo* *E. furcellata* transcriptome assembly

项目 item	转录本 transcripts	基因 unigenes	项目 item	转录本 transcripts	基因 unigenes
300~500 bp	14 256	8 296	总核苷酸长度/bp total nucleotides length	81 004 577	35 520 646
>500~1 kbp	12 446	7 092	平均长度/bp mean length	1 562	1 365
>1~2 kbp	11 635	5 221	最大长度/bp maximum length	20 872	20 872
>2 kbp	13 508	5 413	N50长度/bp N50 length	2 615	2 298
总计 total	51 845	26 022	N90长度/bp N90 length	634	525

次为 Pfam (9 025, 34.68%)、GO (9 025, 34.68%)、NT (8 643, 33.21%)、SwissProt (8 573, 32.94%) 和 KOG (5 423, 20.84%); 在 KO 数据库中注释的最少, 为 5 084 条, 所占比例为 19.53%。

E 值等于 0 说明该基因的注释可信。结果显示: 所有匹配结果的 *E* 值均大于 1e-5, *E* 值大于 1e-5 的占 86.3% (图 1a)。从图 1b 可见: Nr 注释到的 unigenes 基因中, 相似性在 95% 以上的基因

占 15.5%。从匹配的物种来源分析 (图 1c), 叉角厉蝽唾液腺转录组测序拼接的 unigenes 与茶翅蝽 (*Halyomorpha halys*) 的 unigenes 相似性最高, 达到 76.0%。其次与温带臭虫 (*Cimex lectularius*)、*Cryptotermes secundus*、褐飞虱 (*Nilaparvata lugens*) 和 *Lasius niger* 等的相似性分别为 3.7%、2.7%、1.6% 和 1.0%; 另外与其他物种同源的基因占 15.0%。

表 3 基因注释成功率统计表
Tab. 3 Success rate statistics of unigene annotation

注释数据库 database for annotation	基因数量 number of annotated unigenes	注释比例/% percentage of annotated unigenes	注释数据库 database for annotation	基因数量 number of annotated unigenes	注释比例/% percentage of annotated unigenes
NR	12 514	48.09	GO	9 025	34.68
NT	8 643	33.21	KOG	5 423	20.84
KO	5 084	19.53	annotated in all databases	3 060	11.75
SwissProt	8 573	32.94	annotated in at least one database	14 057	54.01
Pfam	9 025	34.68	total unigenes	26 022	100.00

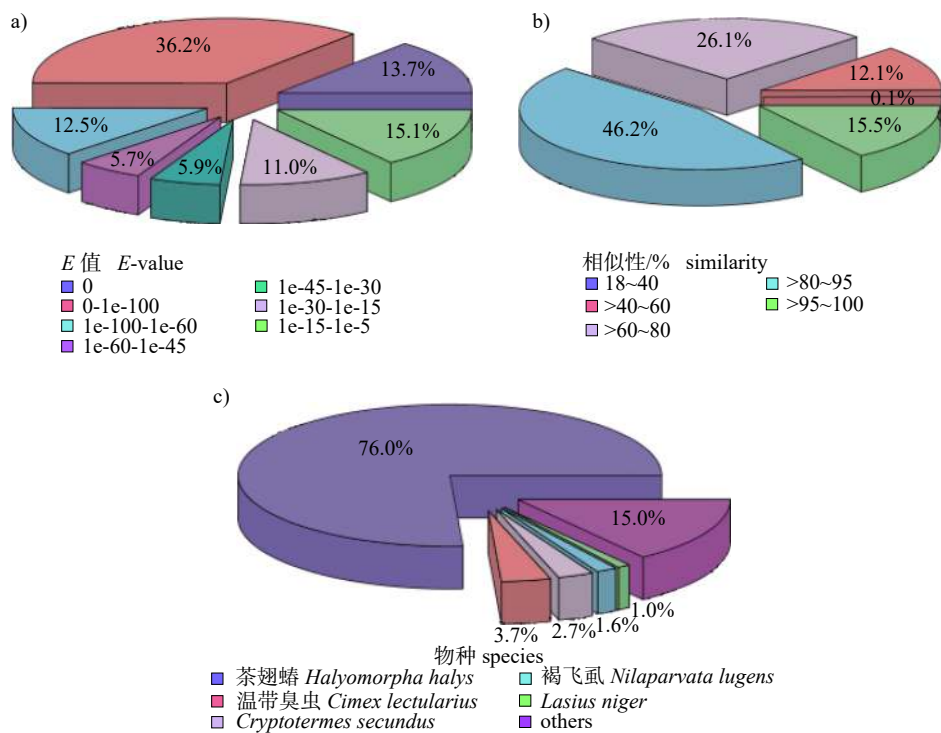


图 1 NR 注释的 *E* 值分布和物种分布

Fig. 1 *E*-value distribution and species classification of sequences matched to the NR database

2.3 基因功能分类

叉角厉蝽唾液腺转录组有 23 132 条 (47.78%) unigenes 被 GO 注释至生物学过程 (biological process) 的 26 个功能亚类; 注释至分子功能 (mo-

lecular function) 的 unigenes 有 10 660 条 (22.02%); 14 621 条 (30.20%) unigenes 归属于细胞组分 (cellular component) 的 10 个功能亚类 (图 2)。在生物学过程中, 注释至细胞过程 (cellular process, GO:

0009987)的 unigenes 数量最多, 达到 4 859 条 (21.00%); 注释到代谢过程 (metabolic process, GO: 0044237) 的 unigenes 数量较多, 达到 4 496 条 (19.44%); 注释到单生物过程 (single-organism process, GO: 0044699) 的 unigenes 达到 3 791 条 (16.39%)。其余均在 3 000 条以下, 其中注释至行为 (behavior, GO: 0007610)、节律性过程 (rhythmic process, GO: 0048511) 和解毒过程 (detoxification, GO: 0098754) 的 unigenes 仅有 5、5 和 6 条。分子功能类型中, 注释至蛋白结合活性 (binding, GO: 0005488) 和催化活性 (catalytic activity, GO: 0003824) 的 unigenes 分别有 5 096 条 (47.80%) 和 3 790 条 (35.55%); 注释至转运活性 (transporter activity, GO: 0005215) 的 unigenes 数量达到 677 条。其余功能亚类均在 300 条以下, 其中被注释至金属伴侣蛋白活性 (metallochaperone activity, GO: 0016530) 的 unigenes 数量仅有 4 条序列。细胞组分功能类型中, 注释至细胞 (cell, GO: 0005623) 和细胞部分 (cell part, GO: 0044464) 的 unigenes 都达到 2 793 条 (19.10%); 注释至细胞器 (organelle, GO: 0043226)、大分子复合物 (macromolecular com-

plex, GO: 0032991)、细胞膜 (membrane, GO: 0016020)、细胞膜部分 (membrane part, GO: 0044425) 和细胞器部分 (organelle part, GO: 0044422) 的 unigenes 数量也分别达到 1 984 条 (13.57%)、1 702 条 (11.64%)、1 630 条 (11.15%)、1 531 条 (10.47%) 和 1 045 条 (7.15%); 其余被注释的功能亚类均在 1 000 条以下。

所有 unigenes 经过 KOG 数据库功能预测和分类, 叉角厉蝽唾液腺转录组共有 5 423 个 unigenes 得到注释, 并被分为 26 个 KOG 类 (图 3)。其中, 共有 4 个 KOG 亚类包含 450 条以上 unigenes, 依次是: 一般功能预测 (general function prediction only, R) 913 条 unigenes, 占比最大 (16.84%); 信号转导机制 (signal transduction mechanisms, T) 675 条 (12.45%) unigenes; 蛋白质翻译后修饰、折叠和分子伴侣 (posttranslational modification, protein turnover, chaperones) 570 条 (10.51%) unigenes; 未知功能 (function unknown, S) 496 条 (9.15%) unigenes。而细胞动力 (cell motility, N)、核结构 (nuclear structure, Y) 和未命名蛋白 (unnamed protein, X) 的 KOG 亚类均包含不足 30 条 unigenes。

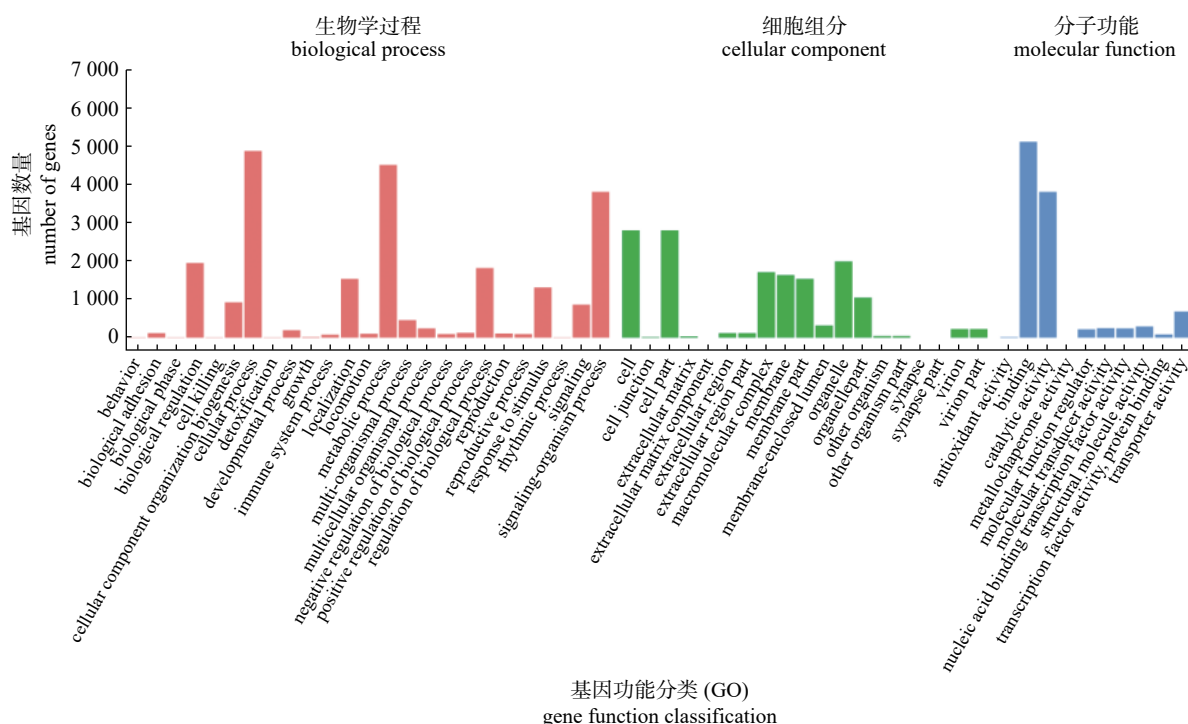


图2 叉角厉蝽 unigenes 的 GO 分类

Fig. 2 Gene ontology (GO) classification of assembled *E. furcellata* unigenes

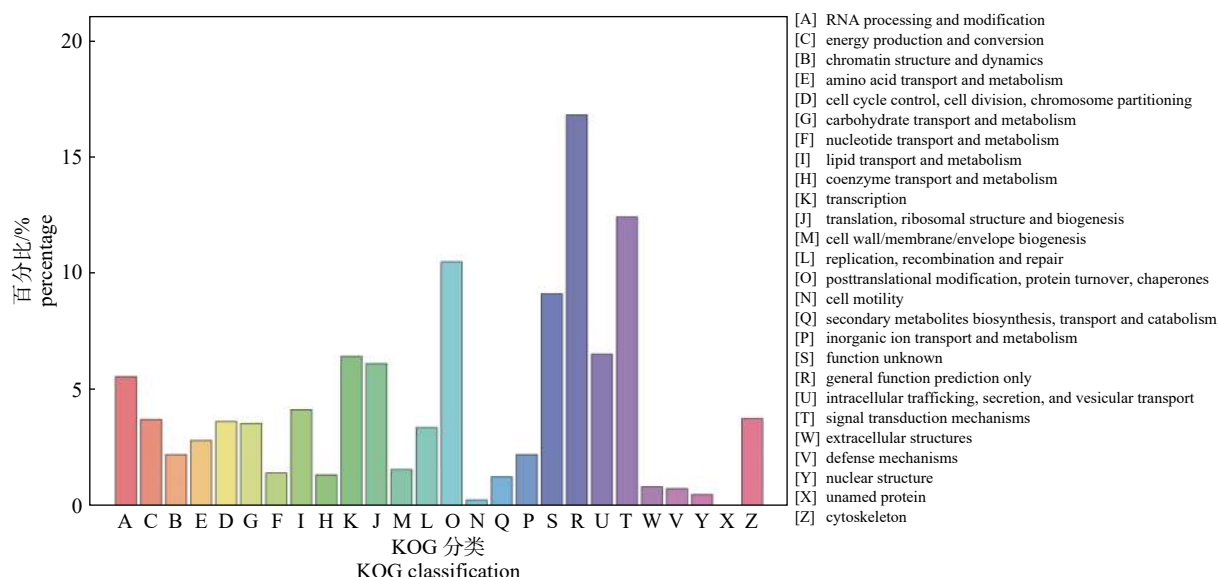


图 3 叉角厉蜻 unigenes 的 KOG 分类

Fig. 3 Karyotic orthologous groups (KOG) classification of *E. fuscicornis* unigenes

共有 5 084 条 unigenes 比对到 KEGG 数据库。在获得注释的 unigenes 中, 25.41% 涉及有机系统 (E, organismal systems), 其中主要参与内分泌系统 (endocrine system, 325 条)、消化系统 (digestive system, 209 条) 和免疫系统 (immune system, 205 条), 其余亚类均在 200 条以下。24.63% 涉及新陈代谢 (D, metabolism), 主要参与糖类 (carbohydrate metabolism, 204 条)、脂质 (lipid metabolism, 182 条) 和蛋白质 (amino acid metabolism, 157 条) 三大营养物质的代谢以及核苷酸代谢 (nucleotide metabolism, 117 条) 等。除此以外, 这些 unigenes 还广泛参与到信号转导 (signal transduction, 548 条) 通路中 (图 4)。

2.4 差异表达基因的筛选

通过 FPKM 方法评估本次测序叉角厉蜻唾液腺样品中的基因表达情况, 采用 DESeq 进行若虫和成虫唾液腺样品组间的差异表达分析。在差异表达基因的筛选过程中, 将 $P_{adj} < 0.05$ 作为差异基因的筛选标准, 比较 2 组测序结果, 筛选出大量差异表达的基因。共鉴定出 3 437 个差异表达基因 (图 5)。

2.5 差异表达基因 GO 富集分析

GO 富集柱状图能表现出差异表达基因在 GO term 上富集的分布情况 (图 6)。将筛选到的 3 437 个差异表达基因 (DEGs) 分类到 3 个 ontology (本体) 中, 差异表达基因在分子功能和生物学过程

中分别包含了 15 和 12 个功能小类。在生物过程这一类中, 差异表达基因在蛋白水解 (proteolysis) 和 DNA 复制 (DNA replication) 2 个功能小类中所占比例最高; 在分子功能这一类中, 差异表达基因在水解酶活性 (hydrolase activity) 和肽酶活性 (peptidase activity) 2 个功能小类中占比最高。

2.6 差异表达基因的 KEGG 注释

KEGG 代谢通路分析共得到 1 509 个差异表达基因, 这些差异表达基因参与 261 个不同的代谢通路。表 4 是含有最多差异基因的前 20 个通路, 在所有通路中代谢途径是含有差异基因序列最多的。KEGG 注释信息主要富集在嘌呤代谢 (purine metabolism)、嘧啶代谢 (pyrimidine metabolism)、半胱氨酸和蛋氨酸的代谢 (cysteine and methionine metabolism) 以及组氨酸代谢 (histidine metabolism) 等。在 KEGG 代谢通路中对与分泌相关的差异表达基因数量进行统计 (表 5), 共得到 58 个差异表达基因。

2.7 关键基因的鉴定

在叉角厉蜻唾液腺转录组数据库中鉴定了 3 个编码组织蛋白酶 B 的基因。组织蛋白酶 B 是溶酶体半胱氨酸蛋白酶, 由二硫键连接的重链和轻链的二聚体组成。同时, 还鉴定了 3 个编码神经内分泌蛋白 7b2 的基因。神经内分泌蛋白 7b2 在大多数神经元和内分泌细胞中起着至关重要的作用。

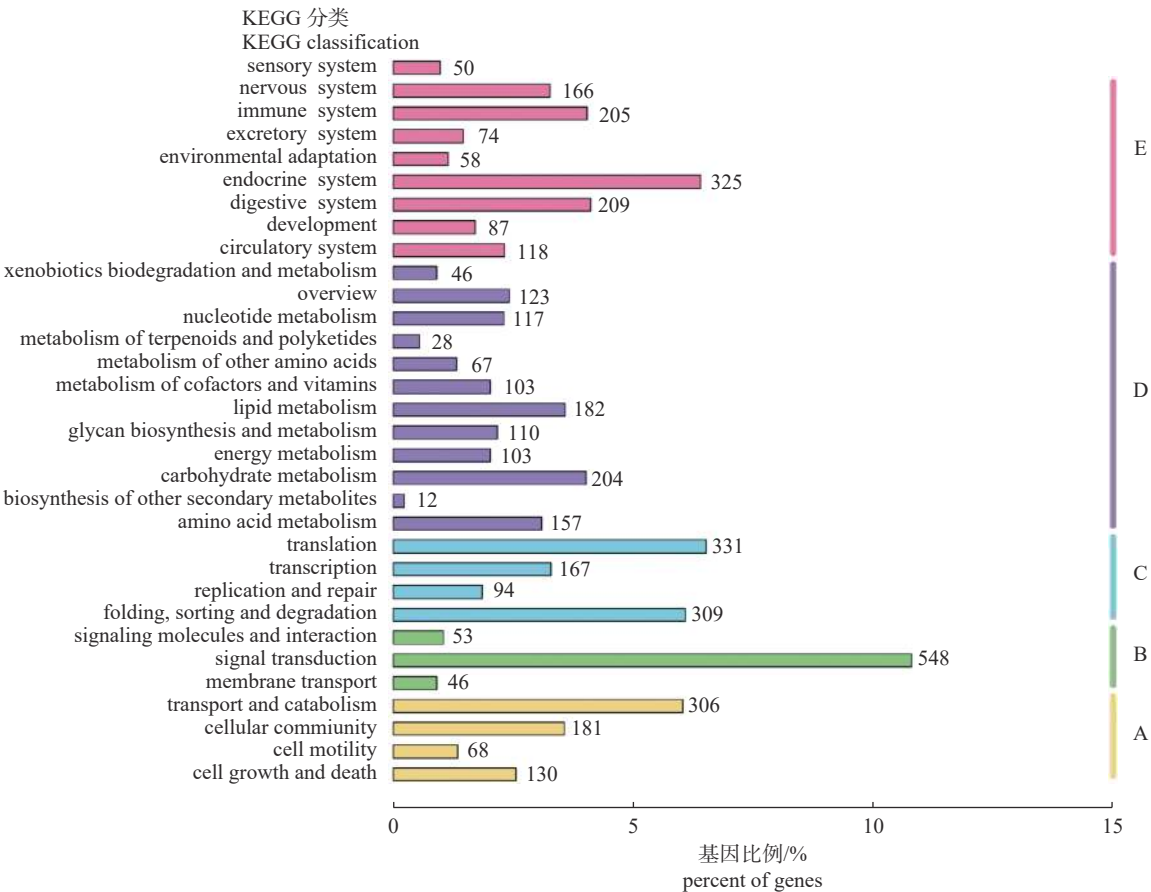


图 4 叉角厉蝽转录组 unigenes 的 KEGG 通路分析

Fig. 4 Classification of *E. furcellata* transcriptome based on KEGG

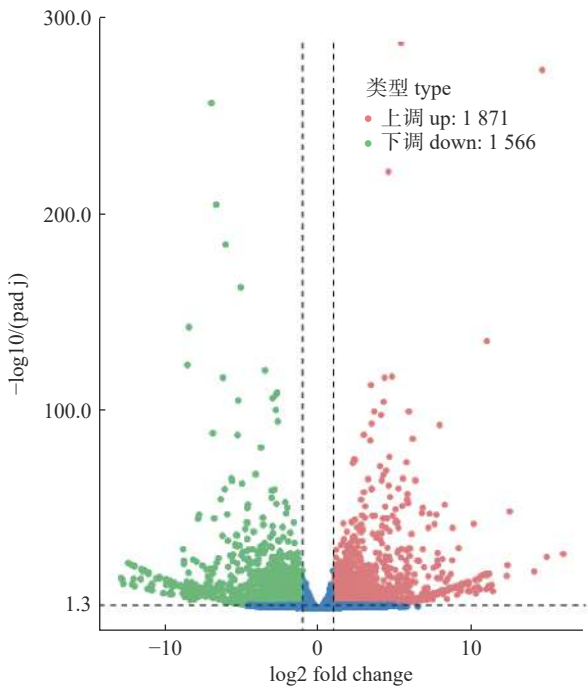


图 5 差异基因火山图

Fig. 5 Differential gene volcano map

3 讨论

转录组测序以 N50 和 Q30 来评估转录组数据的质量。一般认为 N50 值越大就表明得到的长片段越多^[26], 且 Q30 值大于 85% 说明测序结果可靠^[27]。通过对叉角厉蝽成虫和三龄若虫唾液腺进行转录组测序, 共获得唾液腺 unigenes 序列 26 022 条, 平均长度 1 365 bp, N50 长度为 2 298 bp, Q30 值都大于 92%。而茶翅蝽和蝼蛄的唾液腺转录组测序数据为 53 618 条和 92 468 条, 平均长度为 736 和 729 bp, N50 长度仅为 1 439 和 1 311 bp^[13]。从 N50 长度和 Q30 值等方面均显示本次叉角厉蝽唾液腺转录组的拼接结果良好。

将全部 unigenes 序列与七大数据库进行功能注释, 获得 14 057 条 unigenes (54.02%) 成功注释, 仍有 11 965 条 unigenes (45.98%) 未被注释, 这可能是 unigenes 较短, 所以未与公共数据库中的序列比对上^[28], 也有可能是存在很多功能未知的新基因^[29]。通过与 NR 数据库进行比对, 结果

表 5 与分泌相关差异表达基因的统计
Tab. 5 Statistics of differentially expressed genes in secretion

途径 term	ID	表达情况 expression	基因数量 gene number
唾液分泌 salivary secretion	Ko04970	up	6
		down	7
胆汁分泌 bile secretion	Ko04976	up	5
		down	4
胃酸分泌 gastric acid secretion	Ko04971	up	2
		down	3
胰腺分泌 pancreatic secretion	Ko04972	up	10
		down	5
醛固酮的合成与分泌 aldosterone synthesis and secretion	Ko04925	up	2
		down	2
胰岛素分泌 insulin secretion	Ko04911	up	4
		down	6
肾素分泌 renin secretion	Ko04924	up	5
		down	6

表明叉角厉蝽与茶翅蝽的同源序列最多, 茶翅蝽虽是植食性害虫, 主要危害蔬菜和水果^[30], 但这可能与茶翅蝽和叉角厉蝽同属于蝽科, 亲缘关系较近有关。然而本次同源序列比对并没有注释到与跗蝽的相似性, 这可能是由于 NR 数据库中暂时还没有收录到跗蝽的注释信息。

GO 功能富集结果显示: 叉角厉蝽唾液腺参与生物进程的 unigenes 最多, 其中前 3 个类别分别是细胞进程、代谢进程和单生物进程, 由此可以看出唾液腺中的细胞新陈代谢十分活跃。在分子功能中, unigenes 数量最多的 3 个类别是结合、催化活性和转运活性。这与白背飞虱 (*Sogatella furcifera*) 唾液腺^[31]和烟粉虱 (*Bemisia tabaci*) 唾液腺^[10]的研究结果较为一致。分泌唾液是昆虫唾液腺的主要功能, 注释结果显示有很多基因参与结合和转运。在细胞组分中, 前 3 个是细胞、细胞部分和细胞器, 由此可见细胞、细胞器和细胞分子是唾液腺的重要组成部分^[32]。叉角厉蝽唾液腺的这些注释结果表明: 在唾液的合成和分泌过程中需要活跃的代谢活动和高效的蛋白质合成与转运机制。

通过对叉角厉蝽成虫和三龄若虫唾液腺的差异表达分析, 发现叉角厉蝽唾液腺的 26 022 个 unigenes 中有 3 437 个 unigenes 在成虫和三龄若虫中的表达水平不同。数据统计发现有 1 871 个表达水平上调的 unigenes, 1 566 个表达水平下调的 unigenes。GO 富集分析中, 差异基因主要富

集在水解酶活性、肽酶活性和蛋白水解, 表明三龄若虫唾液腺还处在快速发育阶段。KEGG 代谢通路分析有 1 509 个差异表达基因参与 261 个不同的代谢或信号通路, 同时发现 13 个差异表达基因参与了唾液分泌, 这些差异基因的功能有待进一步研究。

BAEK 等^[14]报道组织蛋白酶 B 可能参与了特定的蛋白水解, 从而影响猎物的凝血或免疫力, 最终导致杀虫作用, 同时 KUTSUKAKA 等^[33]发现在 *Tuberaphis styraci* 中组织蛋白酶 B 是毒素的主要成分。神经内分泌蛋白在激素原转化酶 2 (prohormone convertase-2) 的运输和激活中起关键作用, 激素原转化酶 2 负责处理神经肽和肽激素前体^[34]。另外, 神经内分泌蛋白 7b2 可能调节分泌颗粒的形成和分泌^[14], 并可能通过控制激素原转化酶 2 的激活和转运参与唾液肽的成熟。组织蛋白酶 B 和神经内分泌蛋白 7b2 基因可能在唾液的功能中发挥重要的作用。

4 结论

唾液腺是昆虫摄食的重要器官^[35], 研究叉角厉蝽唾液腺转录组意义重大。这些转录组数据将为叉角厉蝽生命活动中功能基因的预测、分子标记的开发、昆虫与其他生物相互作用和信号通路的研究提供有用的分子资源, 也可为其他半翅目昆虫提供数据参考。

[参考文献]

[1] VANITHA K, RAVIPRASAD T N, SHWETHA V. Life cycle of *Eocanthecona furcellata* Wolff. (Hemiptera: Pentatomidae) a predatory bug in cashew plantations, upon rearing on wax moth larvae[J]. Journal of Entomology and Zoology Studies, 2018, 6(2): 3007.

[2] 林长春, 王浩杰, 任华东. 叉角厉蝽生物学特性研究[J]. 林业科学研究, 1998, 11(1): 92. DOI: 10.13275/j.cnki.lykxyj.1998.01.015.

[3] LENIN E A, RAJAN S J. Biology of predatory bug *Eocanthecona furcellata* Wolff (Hemiptera: Pentatomidae) on *Corcyra cephalonica* Stainton[J]. Journal of Entomology and Zoology Studies, 2016, 4(3): 338.

[4] 何旭诺, 洗继东, 陈然, 等. 4种昆虫饲料对叉角厉蝽生长发育和繁殖的影响[J]. 环境昆虫学报, 2013, 35(6): 799. DOI: 10.3969/j.issn.1674-0858.2013.06.16.

[5] 陈然, 梁广文, 张拯研, 等. 叉角厉蝽对斜纹夜蛾的捕食功能反应[J]. 环境昆虫学报, 2015, 37(2): 401. DOI: 10.3969/j.issn.1674-0858.2015.02.26.

[6] YASUDA T, WAKAMURA S. Behavioral responses in prey location of the predatory stink bug, *Eocanthecona furcellata*, to chemical cues in the larvae of *Spodoptera*

- litura* [J]. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 1996, 81(1): 91. DOI: [10.1111/j.1570-7458.1996.tb02018.x](https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1996.tb02018.x).
- [7] BARSAGADE D D, GATHALKAR G B. First predation record of *Canthecona furcellata* (Wolff.) (Hemiptera: Pentatomidae) on spinning stage silkworm *Antheraea mylitta* (Drury)[J]. *Entomological Research*, 2016, 46(4): 236. DOI: [10.1111/1748-5967.12169](https://doi.org/10.1111/1748-5967.12169).
 - [8] 安兴奎. 南方水稻黑条矮缩病毒对白背飞虱唾液腺转录组影响的研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2015.
 - [9] 黄丽君. 带毒与不带毒灰飞虱唾液腺差异表达蛋白对介体取食行为和传毒率的影响[D]. 扬州: 扬州大学, 2016.
 - [10] 邵若玄. MED烟粉虱唾液腺转录组分析与唾液蛋白的质谱鉴定[D]. 杭州: 浙江大学, 2017.
 - [11] 黄海剑. 褐飞虱唾液蛋白功能及唾液腺在水稻齿叶矮缩病毒传播中的作用机制研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2017.
 - [12] CORZO G, ADACHI-AKAHANE S, NAGAO T, et al. Novel peptides from assassin bugs (Hemiptera: Reduviidae): isolation, chemical and biological characterization[J]. *FEBS Letters*, 2001, 499(3): 256. DOI: [10.1016/S0014-5793\(01\)02558-3](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(01)02558-3).
 - [13] SAHAYARAJ K, MUTHUKUMAR S. Zootoxic effects of reduviid *Rhynocoris marginatus* (Fab.) (Hemiptera: Reduviidae) venomous saliva on *Spodoptera litura* (Fab.)[J]. *Toxicon*, 2011, 58(5): 415. DOI: [10.1016/j.toxicon.2011.06.001](https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2011.06.001).
 - [14] BAEK J H, LEE S H. Differential gene expression profiles in the salivary gland of *Orius laevigatus*[J]. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 2014, 17(4): 729. DOI: [10.1016/j.aspen.2014.06.015](https://doi.org/10.1016/j.aspen.2014.06.015).
 - [15] 李丽英, 郭明昉, 吴宏和, 等. 叉角厉蝽的人工饲料[J]. 生物防治通报, 1988, 4(1): 45. DOI: [10.16409/j.cnki.2095-039x.1988.01.015](https://doi.org/10.16409/j.cnki.2095-039x.1988.01.015).
 - [16] 蒋杰贤, 梁广文. 叉角厉蝽对斜纹夜蛾不同龄期幼虫的选择捕食作用[J]. 生态学报, 2001, 21(4): 684. DOI: [10.3321/j.issn:1000-0933.2001.04.029](https://doi.org/10.3321/j.issn:1000-0933.2001.04.029).
 - [17] 唐敏, 邝昭琅, 李子园, 等. 叉角厉蝽对草地贪夜蛾幼虫的捕食功能反应[J]. 环境昆虫学报, 2019, 41(5): 979. DOI: [10.3969/j.issn.1674-0858.2019.05.8](https://doi.org/10.3969/j.issn.1674-0858.2019.05.8).
 - [18] SHYLES A N, SRAVIKA A. Natural occurrence of predatory bugs, *Eocanthecona furcellata* (Wolff) and *Andrallus spinidens* (Fabr.) on *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Hemiptera: Pentatomidae) in maize and their potential in management of fall army worm[J]. *Journal of Biological Control*, 2018, 32(3): 209. DOI: [10.18311/jbc/2018/22477](https://doi.org/10.18311/jbc/2018/22477).
 - [19] 王燕, 张红梅, 尹艳琼, 等. 蝽蝽成虫对草地贪夜蛾不同龄期幼虫的捕食能力[J]. 植物保护, 2019, 45(5): 42. DOI: [10.16688/j.zwbh.2019346](https://doi.org/10.16688/j.zwbh.2019346).
 - [20] 苗少明. 基于基因组的蝽蝽脂肪酸代谢初步分析[D]. 北京: 中国农业科学院, 2019.
 - [21] COHEN A C. Feeding adaptations of some predaceous Heteroptera[J]. *Annals of the Entomological Society of America*, 1990, 83(6): 1215. DOI: [10.1093/aesa/83.6.1215](https://doi.org/10.1093/aesa/83.6.1215).
 - [22] LEMOS W P, RAMALHO F S, SERRAO J E, et al. Morphology of female reproductive tract of the predator *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) fed on different diets[J]. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 2005, 48(1): 129. DOI: [10.1590/S1516-89132005000100017](https://doi.org/10.1590/S1516-89132005000100017).
 - [23] LEMOS W P, ZANUNCIO J C, SERRAO J E. Attack behavior of *Podisus rostralis* (Heteroptera: Pentatomidae) adults on caterpillars of *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae)[J]. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 2005, 48(6): 975. DOI: [10.1590/S1516-89132005000800014](https://doi.org/10.1590/S1516-89132005000800014).
 - [24] AZEVEDO D O, ZANUNCIO J C, ZANUNCIO J S, et al. Biochemical and morphological aspects of salivary glands of the predator *Brontocoris tabidus* (Heteroptera: Pentatomidae)[J]. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 2007, 50(3): 469. DOI: [10.1590/S1516-89132007000300013](https://doi.org/10.1590/S1516-89132007000300013).
 - [25] 金永玲, 丛斌, 王丽艳, 等. 大垫尖翅蝗转录组分析[J]. 昆虫学报, 2015, 58(8): 817. DOI: [10.16380/j.kcxb.2015.08.001](https://doi.org/10.16380/j.kcxb.2015.08.001).
 - [26] 贾新平, 叶晓青, 梁丽建, 等. 基于高通量测序的海滨雀稗转录组学研究[J]. 草业学报, 2014, 23(6): 242. DOI: [10.11686/cyxb20140629](https://doi.org/10.11686/cyxb20140629).
 - [27] JIN Y L, CONG B, WANG L Y, et al. Differential gene expression analysis of the *Epacromius coerulipes* (Orthoptera: Acrididae) transcriptome[J]. *Journal of Insect Science*, 2016, 16(1): 1. DOI: [10.1093/jisesa/iiew014](https://doi.org/10.1093/jisesa/iiew014).
 - [28] 孟翔, 胡俊杰, 刘慧, 等. 荔枝蒂蛀虫转录组及嗅觉相关基因分析[J]. 昆虫学报, 2016, 59(8): 823. DOI: [10.16380/j.kcxb.2016.08.003](https://doi.org/10.16380/j.kcxb.2016.08.003).
 - [29] HOU R, BAO Z M, WANG S, et al. Transcriptome sequencing and *de novo* analysis for Yesso scallop (*Patinopecten yessoensis*) using 454 GS FLX[J]. *PLoS One*, 2011, 6(6): 1. DOI: [10.1371/journal.pone.0021560](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021560).
 - [30] 张金平, 张峰, 钟永志, 等. 茶翅蝽及其生物防治研究进展[J]. 中国生物防治学报, 2015, 31(2): 166. DOI: [10.16409/j.cnki.2095-039x.2015.02.002](https://doi.org/10.16409/j.cnki.2095-039x.2015.02.002).
 - [31] 邓瑶, 刘玉娣, 王香萍, 等. 感染和未感染南方水稻黑条矮缩病毒的白背飞虱成虫唾液腺转录组比较分析[J]. 昆虫学报, 2018, 61(4): 449. DOI: [10.16380/j.kcxb.2018.04.007](https://doi.org/10.16380/j.kcxb.2018.04.007).
 - [32] JI R, YU H X, FU Q, et al. Comparative transcriptome analysis of salivary glands of two populations of rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens*, that differ in virulence[J]. *PLoS One*, 2013, 8(11): e79612. DOI: [10.1371/journal.pone.0079612](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079612).
 - [33] KUTSUKAKA M, SHIBAO H, NIKOH N, et al. Venomous protease of aphid soldier for colony defense[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101(31): 11338. DOI: [10.1073/pnas.0402462101](https://doi.org/10.1073/pnas.0402462101).
 - [34] SEIDEL B, DONG W, SAVARIA D, et al. Neuroendocrine protein 7b2 is essential for proteolytic conversion and activation of proprotein convertase 2 *in vivo*[J]. *DNA and Cell Biology*, 1998, 17(12): 1017. DOI: [10.1089/dna.1998.17.1017](https://doi.org/10.1089/dna.1998.17.1017).
 - [35] MIAO Y T, JIA H K, LI Z, et al. Transcriptomic and expression analysis of the salivary glands in brown planthoppers, *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae)[J]. *Journal of Economic Entomology*, 2018, 111(6): 1. DOI: [10.1093/jee/toy238](https://doi.org/10.1093/jee/toy238).

责任编辑: 何承刚