

蚜虫基因组及功能基因组研究进展*

张柳平^{1,2**} 卢利霞^{1,3**} 刘石娟² 康乐¹ 崔峰^{1***}

(1. 农业虫害鼠害综合治理研究国家重点实验室 中国科学院动物研究所 北京 100101;

2. 曲阜师范大学生命科学学院 曲阜 273165; 3. 东北林业大学生命科学学院 黑龙江 150040)

摘要 蚜虫作为刺吸式昆虫和植物病毒的传播者,已经成为严重威胁农业生产发展的重要害虫之一。近几年随着分子生物学的发展,尤其是基因组测序技术的进步,蚜虫基因组学和功能基因组学取得了重大突破,使我们对蚜虫特殊的生物学特征有了深层次的认识。本文就蚜虫与内共生菌关系、表型可塑性、发育和生殖、系统进化、解毒酶基因家族以及唾液腺方面在基因组和功能基因组水平上的研究进展进行了综述。

关键词 共生菌, 表型可塑性, 发育, 解毒酶, 唾液腺

Advances in research on aphid genomics and functional genomics

ZHANG Liu-Ping^{1,2**} LU Li-Xia^{1,3**} LIU Shi-Juan² KANG Le¹ CUI Feng^{1***}

(1. State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects & Rodents, Institute of Zoology,

Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;

2. College of Life Sciences, Qufu Normal University, Qufu 273165, China;

3. College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Heilongjiang 150040, China)

Abstract Aphids are one of most important agricultural pests which not only damage plants by feeding on their fluids but also transmit viruses. Advances in molecular biology, especially genome sequencing technology, have resulted in a better understanding of aphid genomics and functional genomics. This in turn has allowed us to gain a better understanding of the unique biological characteristics of aphids. Here we review progress in research on the relationship between aphids and symbionts, phenotypic plasticity, development, reproduction, phylogenetics, detoxification enzymes and aphid salivary glands.

Key words symbiont, phenotypic plasticity, development, detoxification enzyme, salivary gland

蚜虫类隶属于昆虫纲(Insecta)同翅目(Homoptera)胸喙亚目(Stemorrhyncha),包括2个总科,球蚜总科(Adelgoidea)和蚜总科(Aphidoidea)。蚜虫类是同翅目昆虫中一个较大的类群,世界已知蚜虫种类4700余种(von Dohlen *et al.*, 2006),中国蚜虫类资源丰富,已知1000余种(Qiao and Zhang, 2004)。蚜虫刺吸植物的韧皮部,吸食植物汁液,具有复杂的生活周期、生殖方式(孤雌生殖和有性生殖交替)和表型可塑性,与细菌有严格的共生关系,与寄主植物有严格的特化关系。另外蚜虫还可以传播多种植物病毒从而

对农业生产造成重大损失。蚜虫的这些特性,使其成为众多昆虫学家和进化生物学家研究的对象,以往多集中在蚜虫生物学、生态学和分类学方面的研究。近年来随着分子生物学技术的发展,尤其是基因测序技术的突飞猛进,致使测序成本大幅下降,蚜虫的基因组及功能基因组学方面的研究与日俱增,取得了实质性的进展,本文就当前蚜虫基因组方面取得的研究成果进行综述。

1 蚜虫基因组

随着人类基因组计划的开展,昆虫基因组学

* 资助项目:本研究由中科院重要方向项目(KSCX2-EW-N-5)、公益性行业(农业)科研专项(201103022)。

** 共同第一作者 E-mail: liuping2006_cool@163.com; lulixia0@126.com

*** 通讯作者, E-mail: cuif@ioz.ac.cn

收稿日期:2011-10-06, 接受日期:2011-10-25

得到了长足的发展,目前至少 12 种昆虫的基因组已被测序或正在测序,最多的是双翅目昆虫。同翅目昆虫只有豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* 的基因组完成了全测序,大豆蚜 *Aphis glycines* 基因组部分序列已公布,桃蚜 *Myzus persicae* 的功能基因组研究的较多。

1.1 豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* 基因组

国际蚜虫基因组联盟 (IAGC, The International Aphid Genomics Consortium) 利用鸟枪测序法成功对豌豆蚜全基因组序列进行测定,该研究成果发表于 2010 年 2 月 23 日美国《*PLoS Biology*》杂志上。豌豆蚜基因组大小约为 464 Mb,综合各种基因预测方法估计有 35 000 个基因,在昆虫中数量最多,其中约有 13 000 个基因在基因组上发生重复,其功能包括染色质修饰、miRNA 合成和糖转运等。大量重复基因,如单性生殖基因、信号传输复制基因和对病毒媒介起重要作用的膜输送相关基因,对揭开蚜虫独特生物学特性的分子基础起到了重要作用。一些具有进化保守性的基因在基因组上发生丢失,如涉及 IMD 免疫通路、硒蛋白的利用、嘌呤补救途径和鸟氨酸循环的基因 (The International Aphid Genomics Consortium, 2010),与免疫相关的基因发生丢失对蚜虫识别微生物及信号传导有一定的危险性 (Gerardo *et al.*, 2010)。

1.2 桃蚜 *Myzus persicae* 功能基因组

Ramsey 等 (2007) 从 16 个已测序的桃蚜 cDNA 文库中建立了 26 669 个基因表达序列标签 (ESTs),建立的桃蚜 cDNA 文库包括有性生殖和无性生殖整个蚜虫虫体的文库以及肠、头部和唾液腺等组织的文库。通过对各 cDNA 文库进行比较,发现有些基因的表达具有组织特异性,有些基因的表达是取食烟草诱导的。此外,还鉴定了 2 423 个桃蚜特有的新基因。通过比较 3 个蚜虫家系的 cDNA 确定了单核苷酸多态性 (SNPs),可作为遗传标记,在某些情况下可以代表蛋白质的功能差异,特别是一个高表达肠道蛋白酶不保守氨基酸的替换可能对于桃蚜取食不同寄主植物的适应性有重要意义。

1.3 大豆蚜 *Aphis glycines* 基因组

Bai 等 (2010) 用 Roche-454 和 Illumina GA-II 2 种方法测定了长度为 2.78×10^8 bp 的大豆蚜

基因组,产生了 19 293 个转录组和 56 688 个基因组序列。从这些数据中,鉴定了 635 个 SNPs 和 1 382 个微卫星标记,而且开发了可能用于鉴定大豆蚜不同生物型的分子标记。此外,还发现了专性内共生菌 *Buchnera aphidicola* 和兼性内共生菌 *Hamiltonella defensa* 的基因序列。

2 蚜虫与共生菌

豌豆蚜与共生菌 *B. aphidicola* APS 是最好的研究昆虫专性共生关系的材料,基因组数据显示,必需氨基酸的生物合成在豌豆蚜和共生菌 *B. aphidicola* APS 之间共享 (Wilson *et al.*, 2010)。氨基酸氮元素的补给是将胺态氮经谷氨酸循环同化为谷氨酸盐,谷氨酸盐循环是一个整合蚜菌共生体氨基酸代谢补充氮的重要资源 (Hansen and Moran, 2011)。豌豆蚜缺乏精氨酸合成能力,其生长所需精氨酸是通过共生菌 *B. aphidicola* APS 产生的,而豌豆蚜具有编码氨基酸合成反应的基因,包括苏氨酸脱水酶和支链氨基酸转氨酶,而这些酶在 *B. aphidicola* APS 中不能编码。豌豆蚜缺乏编码核苷酸磷酸化酶和腺苷脱氢酶的嘌呤循环基因,其共生菌 *B. aphidicola* APS 中的嘌呤代谢基因可以加以补充,而 *B. aphidicola* APS 可通过蚜虫产生的鸟苷酸来满足自身核苷酸的需求 (Ramsey *et al.*, 2010a)。虽然 *Serratia symbiotica* 对寄主的代谢和耐热性有重大影响, Burke 和 Moran (2011) 用 *S. symbiotica* 感染豌豆蚜后,发现其基因表达的变化幅度很小。因此, *S. symbiotica* 对宿主的代谢影响有可能是共生体本身新陈代谢的结果,或宿主基因表达的转录后修饰。

3 蚜虫表型可塑性

Leggai 等 (2010) 结合豌豆蚜基因组高通量测序技术和生物信息分析的方法,确定了豌豆蚜 149 个 miRNA,包括 55 个保守 miRNA 和 94 个新型 miRNA,并研究了 miRNAs 对豌豆蚜不同形态的调节,分析了整个生殖模式转换中 miRNA 的表达,发现 miRNA 是调控蚜虫表型可塑性的重要基础。

Brisson 等 (2010) 研究了蚜虫不同翅形系统表型可塑性的分子机制,蚜虫基因组中存在果蝇属主要的翅发育基因如 *apterous* 和 *decapentaplegic* 的同源基因。Ghanim 等 (2006) 利用 cDNA 芯片,比较了桃蚜有翅成蚜和无翅成蚜的基因表达,发

现 ANT、OS-D 和 Mp takeout-like 的基因表达有明显差别,在有翅蚜中这 3 个基因表达较高,可能与蚜虫飞行和扩散有关。

Srinivasan 等(2010)分析了豌豆蚜基因组中参与减数分裂和细胞循环的基因,发现了豌豆蚜有其它后生动物同源的减数分裂重组基因和 G₁-S 期转变调控基因,并且减数分裂调控基因在蚜虫不同生殖状态中呈现不同的表达,表明细胞循环可塑性可能对蚜虫表型可塑性的进化有重要作用。Rider Jr 等(2010)分析了豌豆蚜染色体结构重塑的相关基因,发现豌豆蚜具有完整的后生动物组蛋白修饰酶基因家族,这个家族比其他节肢动物的基因家族有更高的多样性,对维持蚜虫复杂的生活周期起着促进作用。

4 蚜虫发育和生殖

Shigenobu 等(2010)分析了豌豆蚜发育基因,大多数与发育相关的基因在豌豆蚜中是很保守的,但有些基因家族在不同蚜虫家系中发生了基因复制和基因丢失,尤其是生长因子 beta (TGF β) Wnt、JAK/STAT 和 EGF 通路上的基因。Tagu 等(2004)检测了禾谷缢管蚜 *Rhopalosiphum padi* (L.) 3 龄若虫从孤雌生殖向有性生殖转换的基因表达(ESTs),发现 15 个基因与蚜虫发育和分化有关。Trionnaire 等(2005)比较了生活在长日照和短日照下的豌豆蚜的卵母细胞和脑的基因表达,发现 13 个差异表达的基因,其中 7 个基因可能编码表皮蛋白,这些基因的具体调节作用有待进一步研究。这些工作为从分子水平解释蚜虫孤雌生殖和有性生殖相互转换迈出了重要的一步。

5 蚜虫系统进化

Ollivier 等(2010)以豌豆蚜基因组序列做参照,注释了棉蚜、桃蚜、麦二叉蚜的 EST 库,经过系统进化分析发现有些基因进化很快,包括一些蚜虫特有的基因。对 4 个快速进化的基因(C002, JHAMT, Apo 和 GH)进行详细的系统进化研究,结果表明进化速度的加快通常与基因复制事件有关。Huerta-Cepas 等(2010)对豌豆蚜所有预测的蛋白和 13 个基因组已知的节肢动物及 3 个外群物种的同源蛋白进行系统进化分析,结果显示多基因扩增是蚜虫特有的,4 058 个豌豆蚜基因在果蝇中有同源基因,可进行功能注释。Rispe 等

(2008)研究表明组蛋白酶 B 家族的半胱氨酸蛋白酶基因在蚜虫家系中大量扩增,许多蛋白酶基因表现出肠道特异的高表达。豌豆蚜基因组共有 28 个组蛋白酶 B 家族的基因拷贝,对蚜虫所有组蛋白酶 B 基因进行系统发育分析和分子进化速率的估算,表明进化速度的重大改变往往发生在基因复制以后。

6 蚜虫解毒酶基因家族

昆虫的解毒酶包括细胞色素 P450 单加氧酶,谷胱甘肽 S-转移酶和羧酸酯酶,昆虫在有毒植物上通过解毒酶代谢,产生次级代谢产物。豌豆蚜只取食豆科植物,桃蚜取食大于 40 个植物家族的上百种植物,而桃蚜作为一个比豌豆蚜面临更多植物次级代谢产物的物种,预测其需要一个更大的解毒酶体系。对桃蚜的 cDNA 和豌豆蚜的基因组序列比较后,发现桃蚜比豌豆蚜多 40% 的细胞色素 P450 基因,但这 2 种蚜虫的谷胱甘肽 S-转移酶和羧酸酯酶的数量没有太大的区别(Ramsey *et al.*, 2010b)。Puinean 等(2010)利用桃蚜基因芯片调查了桃蚜耐烟碱类杀虫剂的内在机制,发现 1 个 P450 基因的过量表达和一个表皮蛋白的过量表达与烟碱类抗性相关。张云华等(2010)在豌豆蚜基因组中发现 69 个 P450 基因,分别属于 13 个家族和 18 个亚家族,其中 39 个基因有 EST 证据,证明这些 P450 基因有生物学功能。

7 蚜虫唾液腺

蚜虫分泌的唾液是蚜虫与寄主植物互作的直接物质,唾液中的蛋白成分发挥了重要作用。Carolan 等(2011)利用豌豆蚜唾液腺的转录组和蛋白质组学方法探讨了蚜虫与植物互作的效应蛋白,在 1 577 个转录组翻译的蛋白和 925 个蛋白质组鉴定的蛋白中有 300 多个蛋白有分泌信号肽,其中有些蛋白已在蚜虫唾液中发现。300 多个分泌蛋白中一半是蚜虫特有的,且功能未知。许多效应蛋白比其他昆虫的同源蛋白进化更快,在线虫和真菌中都有同源蛋白。一个功能未知的分泌蛋白 C002,在被蚜虫危害过的蚕豆中检测到,这个蛋白对蚜虫的取食行为有重要作用(Mutti *et al.*, 2008)。Harmel 等(2008)研究发现桃蚜唾液中有葡萄糖氧化酶、葡萄糖脱氢酶、NADH 脱氢酶、 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶,这些酶在植物与蚜虫

互作中起重要作用。

8 展望

豌豆蚜是第 1 个有全长基因组序列的半变态发育的模式生物,随着豌豆蚜全基因组序列的公布,蚜虫基因组研究迅速发展,目前已完成对豌豆蚜基因组的组装和注释,但这仅仅是对解释蚜虫复杂生物学特征的第一步,为今后的纵深研究建立了平台。对其它蚜虫基因组序列的测定、增加蚜虫数据库的多样性、发展生物分析工具和对各种基因进行功能研究等方面将是今后工作的重点,最终为清楚的认识、更好的控制蚜虫奠定基础。

参考文献 (References)

- Bai X, Zhang W, Orantes L, Jun TH, Mittapalli O, Mian MA, Michel AP, 2010. Combining next-generation sequencing strategies for rapid molecular resource development from an invasive aphid species, *Aphis glycines*. *PLoS ONE*, 5(6):e11370.
- Brisson JA, Ishikawa A, Miura T, 2010. Wing development genes of the pea aphid and differential gene expression between winged and unwinged morphs. *Insect Mol. Biol.*, 19(2):63—73.
- Burke GR, Moran NA, 2011. Responses of the pea aphid transcriptome to infection by facultative symbionts. *Insect Mol. Biol.*, 20(3):357—365.
- Carolan JC, Caragea D, Reardon KT, Mutti NS, Dittmer N, Pappan K, Cui F, Castaneto M, Poulain J, Dossat C, Tagu D, Reese JC, Reeck GR, Wilkinson TL, Edwards OR, 2011. Predicted effector molecules in the salivary secretome of the pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*): a dual transcriptomic/proteomic approach. *J. Prot. Res.*, 10(4):1505—1518.
- Gerardo NM, Altincicek B, Anselme C, Atamian H, Barribeau SM, de Vos M, Duncan EJ, Evans JD, Gabaldón T, Ghanim M, Heddi A, Kaloshian I, Latorre A, Moya A, Nakabachi A, Parker BJ, Pérez-Brocá V, Pignatelli M, Rahbé Y, Ramsey JS, Spragg CJ, Tamames J, Tamarit D, Tamborindeguy C, Vincent-Monegat C, Vileinskas A, 2010. Immunity and other defenses in pea aphids, *Acyrtosiphon pisum*. *Gen. Biol.*, 11:R21.
- Ghanim M, Dombrovsky A, Raccach B, Sherman A, 2006. A microarray approach identifies ANT, OS-D and takeout-like genes as differentially regulated in alate and apterous morphs of the green peach aphid *Myzus persicae* (Sulzer). *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 36:857—868.
- Hansen AK, Moran NA, 2011. Aphid genome expression reveals host-symbiont cooperation in the production of amino acids. *PNAS*, 108(7):2849—2854.
- Harmel N, Létocart E, Cherqui A, Giordanengo P, Mazzucchelli G, Guillonnet F, De Pauw E, Haubruge E, Francis F, 2008. Identification of aphid salivary proteins: a proteomic investigation of *Myzus persicae*. *Insect Mol. Biol.*, 17(2):165—174.
- Huerta-Cepas J, Marcet-Houben M, Pignatelli M, Moya A, Gabaldón T, 2010. The pea aphid phylome: a complete catalogue of evolutionary histories and arthropod orthology and paralogy relationships for *Acyrtosiphon pisum* genes. *Insect Mol. Biol.*, 19(2):13—21.
- Legeai F, Rizk G, Walsh T, Edwards O, Gordon K, 2010. Bioinformatic prediction, deep sequencing of microRNAs and expression analysis during phenotypic plasticity in the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *BMC Genomics*, 11:281.
- Mutti NS, Louis J, Pappan LK, Pappan K, Begum K, Chen MS, Park Y, Dittmer N, Marshall J, Reese JC, Reeck GR, 2008. A protein from the salivary glands of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*, is essential in feeding on a host plant. *PNAS*, 105(29):9965—9969.
- Ollivier M, Legeai F, Rispe C, 2010. Comparative analysis of the *Acyrtosiphon pisum* genome and expressed sequence tag-based gene sets from other aphid species. *Insect Mol. Biol.*, 19(2):33—45.
- Puinean AM, Foster SP, Oliphant L, Denholm I, Field LM, Millar NS, Williamson MS, Bass C, 2010. Amplification of a Cytochrome P450 gene is associated with resistance to neonicotinoid insecticides in the aphid *Myzus persicae*. *PLoS Genetics*, 6(6):e1000999.
- Qiao GX, Zhang GX, 2004. Preliminary study of aphid diversity in China: taxonomic and geographic variation//Simon JC, Dedyer CA, Hull M, Rispe C (eds.). *Aphids in a New Millennium*. Paris:INRA. 139—146.
- Ramsey JS, MacDonald SJ, Jander G, Nakabachi A, Thomas GH, Douglas AE, 2010a. Genomic evidence for complementary purine metabolism in the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*, and its symbiotic bacterium *Buchnera aphidicola*. *Insect Mol. Biol.*, 19(2):241—248.
- Ramsey JS, Rider DS, Walsh TK, De Vos M, Gordon KH, Ponnala L, Macmill SL, Roe BA, Jander G, 2010b. Comparative analysis of detoxification enzymes in *Acyrtosiphon pisum* and *Myzus persicae*. *Insect Mol. Biol.*, 19(2):155—164.

- Ramsey JS, Wilson AC, de Vos M, Sun Q, Tamborindéguy C, Winfield A, Malloch G, Smith DM, Fenton B, Gray SM, Jander G, 2007. Genomic resources for *Myzus persicae*: EST sequencing, SNP identification, and microarray design. *BMC Genomics*, 8:423.
- Rider Jr SD, Srinivasan DG, Hilgarth RS, 2010. Chromatin-remodelling proteins of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* (Harris). *Insect Mol. Biol.*, 19 (2):201—214.
- Rispe C, Kutsukake M, Doublet V, Hudaverdian S, Legeai F, Simon JC, Tagu D, Fukatsu T, 2008. Large gene family expansion and variable selective pressures for cathepsin B in aphids. *Mol. Biol. Evol.*, 25(1):5—17.
- Shigenobu S, Bickel RD, Brisson JA, Butts T, Chang C-c, Christiaens O, Davis GK, Duncan EJ, Ferrier DEK, Iga M, Janssen R, Lin G-W, Lu H-L, McGregor AP, Miura T, Smaghe G, Smith JM, van der Zee M, Velarde RA, Wilson MJ, Dearden PK, Stern DL, 2010. Comprehensive survey of developmental genes in the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*: frequent lineage-specific duplications and losses of developmental genes. *Insect Mol. Biol.*, 19 (2):47—62.
- Srinivasan DG, Fenton B, Jaubert-Possamai S, Jaouannet M, 2010. Analysis of meiosis and cell cycle genes of the facultatively asexual pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* (Hemiptera: Aphididae). *Insect Mol. Biol.*, 19 (2): 229—239.
- Tagu D, Prunier-Leterme N, Legeai F, Gauthier JP, Duclert A, Sabater-Munoz B, Bonhomme J, Simon JC, 2004. Annotated expressed sequence tags for studies of the regulation of reproductive modes in aphids. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 34:809—822.
- The International Aphid Genomics Consortium, 2010. Genome sequence of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. *PLoS Biol.*, 8(2):e1000313.
- Trionnaire GL, Sabater-Munoz B, Benedetto A, Bonhomme J, Leterme N, Callaini G, Riparbeli MG, Jaubert S, Martinez-Tortes D, Cortes T, Simon JC, Tagu D, 2005. Molecular basis of reproductive polyphenism in the pea aphid. Presentation in '7th International Symposium on Aphids' in Fremantle, Australia.
- von Dohlen CD, Rowe CA, Heie OE, 2006. A test of morphological hypotheses for tribal and subtribal relationships of Aphidinae (Insecta: Hemiptera: Aphididae) using DNA sequences. *Mol. Phylogen. Evol.*, 38:316—329.
- Wilson AC, Ashton PD, Calevro F, Charles H, Colella S, Febvay G, Jander G, Kushlan PF, Macdonald SJ, Schwartz JF, Thomas GH, Douglas AE, 2010. Genomic insight into the amino acid relations of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*, with its symbiotic bacterium *Buchnera aphidicola*. *Insect Mol. Biol.*, 19 (2):249—258.
- 张云华, 王强, 刘静, 张鹏飞, 陈建群, 2010. 豌豆蚜基因组 P450 基因家族的分析. *昆虫学报*, 53 (8): 849—856.