

# 感染球孢白僵菌的烟粉虱若虫免疫应答转录组分析\*

王登杰\*\* 吴圣勇 雷仲仁 王海鸿\*\*\*

(中国农业科学院植物保护研究所/植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100193)

**摘要** 【目的】筛选烟粉虱 *Bemisia tabaci* (Gennadius) 若虫应对白僵菌 *Beauveria bassiana* 侵染的应答基因, 以进一步研究烟粉虱免疫反应的分子机制。【方法】采用新一代高通量测序技术对感染和非感染白僵菌的烟粉虱 4 龄若虫进行了测序分析, 并筛选了差异表达基因; 利用生物信息学工具对转录组测序得到的基因进行了功能注释、分类以及参与的信号通路展示。【结果】组装得到非冗余 Unigene 232 554 个, 其 N50 和 N90 分别为 1 153 bp 和 260 bp, 平均长度为 67 424 bp。对所有的基因进行差异表达分析发现: 以  $P < 0.05$  为标准筛选得到了 1 166 个差异表达基因, 其中上调表达基因有 474 个, 下调表达基因有 692 个, 其中, 与免疫相关的基因有 405 个; GO 富集分析发现: 有 416 个 GO term 有富集现象, 包括 156 个生物学过程 (66 402 个 Unigenes), 89 个细胞组分 (27 645 个 Unigenes) 和 154 个分子功能 (73 417 个 Unigenes); KEGG 代谢通路分析将烟粉虱转录组 1 145 个 DEG 匹配到 309 个通路上, 其中 76 个通路得到了富集。【结论】对 405 个可能参与到烟粉虱若虫对白僵菌侵染的免疫识别和防御的基因进行了测序。研究结果为从分子水平上开展应用昆虫真菌防治烟粉虱的研究奠定信息学基础。

**关键词** 白僵菌, 侵染, 烟粉虱, 转录组

## Transcriptome analysis of *Bemisia tabaci* nymphs infected with *Beauveria bassiana*

WANG Deng-Jie\*\* WU Sheng-Yong LEI Zhong-Ren WANG Hai-Hong\*\*\*

(State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

**Abstract** [Objectives] To screen the whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius) genes that respond to infection by *Beauveria bassiana* in order to further elaborate molecular mechanisms underlying the immune response to fungal infection. [Methods] High throughput sequencing technology was used in the transcriptome analysis of *Bemisia tabaci* 4th instar nymphs that were either infected, or uninfected (control), with *B. bassiana*. Differentially expressed genes (DEGs) and their functions, classifications and signaling pathways were analyzed using bioinformatic tools. [Results] 232 554 non-redundant Unigenes were identified, among which N50 and N90 were 1 153 bp and 260 bp in length, respectively. The average length of all Unigenes were 67 424 bp. Among the 1 166 DEGs ( $P < 0.05$ ) identified, 474 were up-regulated and 692 were down-regulated, and 405 are known to be involved in insect immune response. The identified Unigenes were enriched in 156 biological processes (66 402 Unigenes), 89 cellular components (27 645 Unigenes) and 154 molecular functions (73 417 Unigenes) by

\* 资助项目 Supported projects: 现代农业产业技术体系 (CARS-25-B-07); 北京市科技计划课题 (Z121100001212006)

\*\*第一作者 First author, E-mail: 576023312@qq.com

\*\*\*通讯作者 Corresponding author, E-mail: wanghaihong2020@sina.com

收稿日期 Received: 2015-01-05, 接受日期 Accepted: 2015-01-15

GO analysis. KEGG pathway analysis indicated that 1 145 DEGs were mapped to 309 distinctive pathways, and were enriched in 76 pathways. **[Conclusion]** Four hundred and five genes that are possibly involved in the immune recognition and defense of whitefly nymphs against *B. bassiana* infection were sequenced. The results provide a bioinformatic data base for using entomopathogenic fungi as a biological control for whitefly.

**Key words** *Beauveria bassiana*, infect, *Bemisia tabaci*, transcriptome

烟粉虱 *Bemisia tabaci* (Gennadius) 是一种世界性害虫, 对蔬菜, 花卉, 棉花和烟草等多种经济作物造成严重为害 (Brown *et al.*, 1995)。由于烟粉虱对化学杀虫剂抗性的快速发展以及杀虫剂本身引起的环境问题 (Wang *et al.*, 2010), 利用昆虫病原真菌等生物农药已成为防治烟粉虱的重要途径 (Faria and Wraight, 2001)。

球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* 是一种广谱性昆虫病原真菌, 大量研究通过室内及大田试验证明了其对烟粉虱的高度侵染性 (Wraight *et al.*, 1998, 2000; Liu and Stansly, 2009; Liu *et al.*, 2010)。本实验室从亚洲玉米螟上分离到一株对烟粉虱致病力较高的球孢白僵菌 GZGY-1-3 菌株, 在浓度为  $1 \times 10^7$  孢子/mL 时, 对 4 龄若虫的侵染率为 88% (另文发表)。

在真菌侵染昆虫的过程中, 昆虫的先天免疫防御机制构成了抵御真菌侵染的第一道防线。昆虫通过识别入侵的真菌, 触发复杂的信号转导途径。了解昆虫受真菌侵染过程中的模式识别, 信号传导, 调制和免疫反应效应蛋白等的免疫相关基因信息, 对于揭示昆虫和真菌病原物间的互作, 寻找提高真菌侵染昆虫效率的靶标基因具有重要意义。

转录组研究是一种发掘功能基因的重要途径, 是基因功能及结构研究的基础和出发点。一些转录组研究展示了昆虫对真菌侵染的免疫防御机制, 其中包括了白僵菌侵染烟粉虱成虫的转录组分析 (Xia *et al.*, 2013)。然而, 由于烟粉虱属于不完全变态昆虫, 成虫和若虫在生理结构和生化机制上存在着显著的差异 (Byren and Bellows, 1991)。此外, 烟粉虱成虫由于被覆鳞片, 真菌对其侵染效率较低, 在实际应用中白僵菌的目标虫态是若虫 (Faria and Wraight, 2001)。因此, 我们利用转录组测序技术分析了

烟粉虱若虫受白僵菌侵染的免疫应答相关基因, 寻找烟粉虱若虫应对白僵菌侵染的重要靶标基因, 从而为从分子水平上开展应用白僵菌防治烟粉虱的研究奠定信息学基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试昆虫和真菌

本试验所用烟粉虱来自于中国农业科学院植物保护研究所蔬菜害虫组。烟粉虱用番茄幼苗饲养, 饲养条件为 26℃, L:D=12:12。球孢白僵菌菌株 GZGY-1-3【保藏在中国普通微生物菌种保藏中心 (CGMCC) (No. 9254)】, 在室内用萨氏培养基斜面培养获得分生孢子粉。用灭菌的 0.05% 吐温-80 配置  $1 \times 10^8$  的球孢白僵菌悬浮液。

### 1.2 用于转录组测序的样品制备

选取 10 株高 25 cm 左右且未被烟粉虱定殖的番茄幼苗置于养虫笼中, 24 h 后将幼苗取出并驱除叶片上的成虫, 然后放入一个干净的养虫笼中, 饲养条件同上。15 d 后, 85% 以上烟粉虱已发育为 4 龄若虫。将含有 4 龄若虫的叶片剪下并分为 2 组, 一组用 0.05% 的吐温-80 无菌溶液中浸泡 10 s 作为对照, 另一组用  $1 \times 10^8$  浓度孢子悬浮液浸泡 10 s 作为处理。浸泡后的叶片置于室温下 30 min, 使其自然晾干。晾干后的叶片放在含有 1% 的琼脂培养皿中, 培养皿置于 26℃, L:D=12:12 条件下培养。48 h 后, 分别将处理和对照下存活的 4 龄若虫小心挑下置于冻存管中 (粉红或红色的若虫视为死亡)。在若虫的收集过程中, 冻存管置于液氮中以防止烟粉虱 RNA 降解。每个样品收集 2 000 头烟粉虱。处理组和对照组各取 2 个生物学重复, 1 个用于测序, 1 个用于 qRT-PCR 验证。

### 1.3 RNA 提取、定量、纯化及 cDNA 文库构建

利用Trizol试剂(Invitrogen, USA)提取Total RNA。根据Qubit RNA Assay Kit说明书对Total RNA的定量;再根据Bioanalyzer 2100 RNA-6000 Nano Kit对Total RNA的进行完整性检测。以4  $\mu$ g的起始量,对Total RNA进行两次纯化,使用结合有poly-T寡核苷酸的磁珠从总RNA中分离纯化出含有poly-A的mRNA;然后在94  $^{\circ}$ C, 8 min条件下对mRNA进行片段化处理;最后用SuperScript 逆转录酶和随机引物将与随机引物结合的断裂RNA片段反转录成双链cDNA,并使用AMPure XP beads对其进行纯化。将合成的cDNA样品送往上海欧易生物公司进行测序。

### 1.4 数字基因表达谱(Digital gene expression profiling, DGE)文库的构建

纯化后的cDNA文库在Illumina测序平台上进行测序。测序完成后将获得序列的原始图像数据,这些原始图像数据经过转换得到原始序列数据(Raw reads)。

### 1.5 测序质量评估及组装

去掉Raw reads中含有带接头(Adapter)的reads、含N的比例大于10%的reads以及低质量的reads,获得clean reads。另外,为防止clean reads中有外来物种的污染,应对其进行污染检测。检测方法是分别从两样本中随机抽取50万对clean reads在Nt数据库中进行Blast比对(默认参数)。

样本质量检测合格后,将两样本中烟粉虱的clean reads应用Trinity软件(版本 trinityrnaseq\_r2013\_08\_14)采用paired-end法进行de novo混合拼接(两样本中的clean reads来自于同一物种且处理组样本中的球孢白僵菌clean reads通过与白僵菌基因组比对后去除),获得不可延长的非冗余All-Unigene。

### 1.6 Unigene 的功能注释

将All-Unigene序列分别与NR、SWISS-PROT、TrEMBL、CDD、PFAM、KOG、GO和KO数据库进行BLASTx比对,通过gene的相似性进行功

能注释。

### 1.7 差异表达基因(DEG)筛选及GO、KOG富集分析

将对照组文库与处理组文库中的基因表达水平进行比较,以 $P < 0.05$ 为条件,筛选出差异表达基因。将所有差异表达基因与GO和KEGG数据库对比,用超几何分布法确定GO和通路在差异表达基因中是否有富集( $P < 0.05$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 DGE 文库的构建

测序完成后,分别从对照组YF-1和处理组YB-1中获得了Raw reads 63 905 804和64 022 454个。移除含接头的reads、含N比例较大的reads及低质量reads后,分别获得了56 394 738和54 328 376个clean reads,两者分别包含了5 451 458 277和5 220 859 673个核苷酸(表1)。

### 2.2 质量检测及组装

在样品外来物种污染检测中,从两样本中随机抽取的50万对clean reads与Nt数据库比对的结果中可以看出,大多数Clean Reads均能与烟粉虱及其近缘种的序列比对上(图1:A,B中展示了对比上的前20种物种名),说明样本未受到外来物种污染或受到的污染很少,可忽略不计。

质量检测合格后,对两样品中的烟粉虱clean reads(处理组样品YB-1中的球孢白僵菌clean reads已移除)进行de novo混合拼接。拼接完成后,获得了232 554条不可延长的非冗余Unigene,其N50和N90分别为1 153 bp和260 bp,平均长度为674.24 bp(表1)。

### 2.3 注释结果概括

将上述拼接后得到的232 554条Unigene分别与NR、SWISS-PROT、TrEMBL、CDD、Pfam、KOG、GO和KO数据库进行比对,从比对的结果中取相似度大于30%,且 $e < 1e-5$ 的注释作为Unigene的注释结果。比对结果的基本信息如表2所示。

## 2.4 差异表达基因( DEG )筛选及 GO, pathway 富集分析

为鉴别可能在烟粉虱抵抗真菌感染的防御反应中发挥重要作用的差异表达基因,将处理组与对照组数据进行比对分析。以 $P<0.05$ 为标准筛选得到了1 166个差异表达基因,其中上调表达基因有474个,下调表达基因有692个。

为了进一步揭示差异表达基因的功能,我们对其进行了GO注释。分析结果显示,1 166个DEGs富集在623个GO terms中,其中,具有显著

性富集的GO terms有416个( $P<0.05$ ),包括156个生物学过程(Biological processes)、89个细胞组分(Cellular component)和154个分子功能(Molecular function)。在生物学过程中,差异表达基因主要集中在能量代谢、离子运输、转录和翻译调控以及防御反应等方面,如能量代谢:“碳水化合物代谢过程”(GO:0005975)、“有氧呼吸”(GO:0009060)、“糖代谢”(GO:0042593)等;离子运输:“质子转运”(GO:0006869)、“钠离子的跨膜转运”(GO:0035725);

表 1 对照组(YF-1)和处理组(YB-1)烟粉虱转录组概要  
Table 1 Summary of control (YF-1) and treatment (YB-1) transcriptomes

| 概要<br>Summary                                                    | 对照组(YF-1)<br>Control (YF-1) | 处理组(YB-1)<br>Treatment (YB-1) | 混合拼接*<br>All* |
|------------------------------------------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|---------------|
| Raw reads总数<br>Total number of raw reads                         | 63 905 804                  | 64 022 454                    | —             |
| Clean reads总数<br>Total number of clean reads                     | 56 394 738                  | 54 328 376                    | —             |
| Clean nucleotides ( nt ) 总数<br>Total number of clean nucleotides | 5 451 458 277               | 5 220 859 673                 | —             |
| Clean reads的平均长度( bp )<br>Average length of clean reads (bp)     | 96.67                       | 96.10                         | —             |
| Transcript总数<br>Total number of transcript                       | —                           | —                             | 342 186       |
| Unigene总数<br>Total number of Unigene                             | —                           | —                             | 232 554       |
| Transcript的N50<br>N50 of transcript                              | —                           | —                             | 1 841         |
| Unigene的N50<br>N50 of Unigene                                    | —                           | —                             | 1 153         |
| Transcript的N90<br>N90 of transcript                              | —                           | —                             | 319           |
| Unigene的N90<br>N90 of Unigene                                    | —                           | —                             | 260           |
| Transcript的平均长度( bp )<br>Average length of transcript (bp)       | —                           | —                             | 917.66        |
| Unigene的平均长度( bp )<br>Average length of Unigene (bp)             | —                           | —                             | 674.24        |

\* YB-1 和 YF-1 中clean reads混合拼接的结果。

\* The results of mixed assembled clean reads form YB-1 and YF-1.

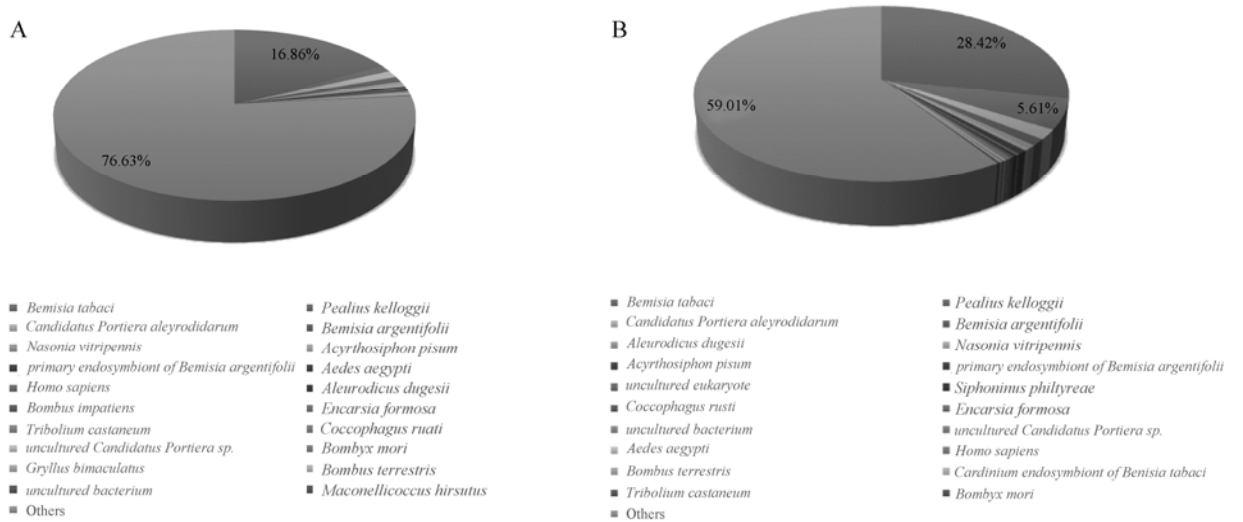


图1 外来物种污染检测

**Fig. 1 Contamination detection of introduced species**

A. 对照组 Control; B. 处理组 Treatment.

表 2 Unigene 在 NR, SWISS-PROT, TrEMBL, CDD, Pfam, KOG, GO 和 KO 数据库中的注释

**Table 2 Annotation of Unigene in NR, SWISS-PROT, TrEMBL, CDD, Pfam, KOG, GO and KO databases**

| 数据库<br>Database                                  | Unigene数<br>Number of Unigene | 百分比<br>Percentage (%) |
|--------------------------------------------------|-------------------------------|-----------------------|
| 注释到NR<br>Annotated in NR                         | 59 844                        | 25.73                 |
| 注释到SWISS-PROT<br>Annotated in SWISS-PROT         | 36 432                        | 15.67                 |
| 注释到TrEMBL<br>Annotated in TrEMBL                 | 59 185                        | 25.45                 |
| 注释到CDD<br>Annotated in CDD                       | 28 143                        | 12.10                 |
| 注释到Pfam<br>Annotated in Pfam                     | 50 557                        | 21.74                 |
| 注释到KOG<br>Annotated in KOG                       | 25 750                        | 11.07                 |
| 注释到GO<br>Annotated in GO                         | 46 249                        | 19.89                 |
| 注释到KO<br>Annotated in KO                         | 28 037                        | 12.06                 |
| 注释到所有数据库<br>Annotated in all Databases           | 7 248                         | 3.12                  |
| 至少注释到一个数据库<br>Annotated in at least one Database | 66 263                        | 28.50                 |
| 总体Unigene<br>Total Unigene                       | 232 554                       | 100                   |

翻译和转录：“翻译”(GO:0006412)、“翻译调控”(GO:0006417)、“翻译延伸”(GO:0006414)；防御反应：“杀害其他生物细胞”(GO:0031640)、“儿茶酚胺生物合成过程”(GO:0042423)、先天免疫应答(GO:0045087)、“对真菌的防御反应”(GO:0050832)等(表3)。这些结果表明，球孢白僵菌在侵染过程中，烟粉虱体内发生了许多生理生化变化，这些变化在对真菌的防御反应中起着重要作用。

为了弄清哪些通路在真菌入侵期间被显著调控，我们也将差异表达基因与KEGG通路进行了比对。比对结果显示，1 166个DEGs中有1 145个DEGs能与KEGG中的309个不同的通路匹配。而随后对这些通路的显著性分析( $P < 0.05$ )发现，有76条通路有富集现象。进一步分析表明，这些通路主要集中在能量代谢、免疫、神经性疾病、传染性疾病及转录和翻译等方面(表4)。

表3 部分富集在生物学过程中的GO terms  
Table 3 Parts of GO terms which enriched in biological processes

| GO条目<br>GO term                                    | GO号<br>GO ID | 基因总数<br>Total genes | 差异表达基因<br>DEGs | P值<br>P-value |
|----------------------------------------------------|--------------|---------------------|----------------|---------------|
| 能量代谢 Energy metabolism                             |              |                     |                |               |
| 需氧呼吸<br>Aerobic respiration                        | GO:0009060   | 41                  | 2              | 0.0006029     |
| 呼吸电子传递链<br>Respiratory electron transport chain    | GO:0022904   | 34                  | 2              | 0.0003455     |
| ATP生物合成过程<br>ATP biosynthetic process              | GO:0006754   | 215                 | 3              | 0.0112472     |
| 糖稳态<br>Glucose homeostasis                         | GO:0042593   | 18                  | 2              | 4.94E-05      |
| 碳水化合物代谢过程<br>Carbohydrate metabolic process        | GO:0005975   | 979                 | 7              | 0.0450877     |
| GTP 分解代谢过程<br>GTP catabolic process                | GO:0006184   | 419                 | 19             | 1.35E-08      |
| 磷酸甘油代谢过程Glycerol-3-phosphate<br>metabolic process  | GO:0006072   | 45                  | 4              | 8.40E-05      |
| 离子运输 Ion transport                                 |              |                     |                |               |
| 钠离子跨膜传递<br>Sodium ion transmembrane transport      | GO:0035725   | 28                  | 1              | 0.005611      |
| 离子转运<br>Ion transport                              | GO:0006811   | 1 234               | 21             | 0.0070994     |
| 阴离子转运<br>Anion transport                           | GO:0006820   | 28                  | 3              | 0.0001634     |
| 铜离子转运<br>Copper ion transport                      | GO:0006825   | 26                  | 1              | 0.0272922     |
| 单价无机阳离子转运<br>Monovalent inorganic cation transport | GO:0015672   | 11                  | 2              | 0.0001515     |
| 铁离子转运<br>Iron ion transport                        | GO:0006826   | 27                  | 6              | 6.99E-09      |
| 钾离子转运<br>Potassium ion transport                   | GO:0006813   | 192                 | 4              | 0.0434996     |

续表 3 (Table 3 continued)

| GO条目<br>GO term                                                                                                             | GO号<br>GO ID | 基因总数<br>Total genes | 差异表达基因<br>DEGs | P 值<br>P-value |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|---------------------|----------------|----------------|
| 转录和翻译 Transcription and translation                                                                                         |              |                     |                |                |
| rRNA 加工<br>rRNA processing                                                                                                  | GO:0006364   | 288                 | 5              | 0.0011564      |
| RNA剪切的负调控<br>Negative regulation of RNA splicing                                                                            | GO:0033119   | 2                   | 2              | 0              |
| 翻译的调控<br>Regulation of translation                                                                                          | GO:0006417   | 99                  | 2              | 0.0074761      |
| 转录和翻译 Transcription and translation                                                                                         |              |                     |                |                |
| 翻译<br>Translation                                                                                                           | GO:0006412   | 1 337               | 87             | 1.06E-75       |
| 翻译延长<br>Translational elongation                                                                                            | GO:0006414   | 233                 | 9              | 4.72E-08       |
| 核转录的mRNA代谢过程<br>Nuclear-transcribed mRNA catabolic process                                                                  | GO:0000184   | 72                  | 1              | 0.0338151      |
| 通过剪切体进行的mRNA 可变剪切<br>Regulation of alternative mRNA splicing,<br>via spliceosome                                            | GO:0000381   | 30                  | 2              | 0.0032382      |
| 免疫反应 Immune response                                                                                                        |              |                     |                |                |
| 酪氨酸激酶活性的负调节<br>Negative regulation of protein tyrosine<br>kinase activity                                                   | GO:0061099   | 4                   | 2              | 2.53E-07       |
| 蛋白酶体决定的蛋白代谢过程的正调控<br>Positive regulation of proteasomal ubiquitin-<br>dependent protein catabolic process                   | GO:0032436   | 8                   | 2              | 3.49E-06       |
| 儿茶酚胺生物合成过程<br>Catecholamine biosynthetic process                                                                            | GO:0042423   | 29                  | 2              | 0.0002142      |
| 吞噬作用的负调控<br>Negative regulation of phagocytosis                                                                             | GO:0050765   | 4                   | 2              | 2.53E-07       |
| 先天免疫反应<br>Innate immune response                                                                                            | GO:0045087   | 161                 | 2              | 0.0271643      |
| 对细菌的防御反应<br>Defense response to bacterium                                                                                   | GO:0042742   | 48                  | 4              | 1.49E-06       |
| 对真菌的防御反应<br>Defense response to fungus                                                                                      | GO:0050832   | 33                  | 4              | 2.17E-07       |
| MyD88决定的toll 样受体信号途径<br>MyD88-dependent toll-like receptor signaling<br>pathway                                             | GO:0002755   | 13                  | 2              | 0.0002586      |
| 细胞凋亡过程的负调控<br>Negative regulation of apoptotic process                                                                      | GO:0043066   | 106                 | 10             | 1.05E-08       |
| 对胁迫的反应<br>Response to stress                                                                                                | GO:0006950   | 307                 | 48             | 7.96E-43       |
| 对热的反应<br>Response to heat                                                                                                   | GO:0009408   | 40                  | 6              | 1.31E-07       |
| 参与细胞凋亡过程的半胱氨酸类肽链内切<br>酶的负调控<br>Negative regulation of cysteine-type endopeptidase<br>activity involved in apoptotic process | GO:0043154   | 29                  | 10             | 2.63E-15       |

表4 部分KEGG分析中富集的通路  
Table 4 Parts of enriched pathways in KEGG analysis

| 途径ID<br>Pathway ID | 描述<br>Description                                        | 基因总数<br>Total genes | 差异表达基因<br>DEGs | P值<br>P-value |
|--------------------|----------------------------------------------------------|---------------------|----------------|---------------|
| ko00190            | 氧化磷酸化<br>Oxidative phosphorylation                       | 413                 | 8              | 0.0001104     |
| ko03010            | 核糖体<br>Ribosome                                          | 667                 | 92             | 7.59E-114     |
| ko04141            | 内质网上的蛋白加工<br>Protein processing in endoplasmic reticulum | 658                 | 34             | 1.49E-08      |
| ko03018            | RNA 降解<br>RNA degradation                                | 385                 | 17             | 0.0002292     |
| ko04020            | 钙信号传导途径<br>Calcium signaling pathway                     | 349                 | 12             | 0.0106157     |
| ko04612            | 抗体加工和展示<br>Antigen processing and presentation           | 177                 | 24             | 1.82E-15      |
| ko00010            | 糖酵解/糖质新生<br>Glycolysis/Gluconeogenesis                   | 207                 | 10             | 0.0013247     |
| ko03040            | 剪切体<br>Spliceosome                                       | 635                 | 17             | 0.0379834     |
| ko00020            | 柠檬酸盐循环<br>Citrate cycle (TCA cycle)                      | 154                 | 19             | 5.77E-12      |
| ko05010            | 阿兹海默病<br>Alzheimer's disease                             | 514                 | 23             | 2.31E-05      |
| ko03320            | PPAR信号通路<br>PPAR signaling pathway                       | 173                 | 7              | 0.0128139     |

### 3 讨论

球孢白僵菌是侵染烟粉虱若虫的重要病原体 (Faria and Wraight, 2001)。在适宜的温湿度条件下,白僵菌孢子在烟粉虱若虫体壁上附着 (张烨等, 2013), 萌发 (Liu *et al.*, 2010), 穿透体壁进入虫体内。在虫体内,病原菌通过大量生长、繁殖导致宿主死亡 (刘召等, 2006); 而另一方面,宿主通过体液免疫和细胞免疫 (任洁等, 2013) 的方式抵御和限制外来的病原菌。虽然已有研究白僵菌诱导烟粉虱成虫免疫应答的转录组分析 (Xia *et al.*, 2013), 鉴于烟粉虱若虫是白僵菌侵染的重要靶标虫态,因此有必要进行白僵菌侵染烟粉虱若虫时所诱导的免疫反应

的转录组分析。

本文通过第2代高通量测序技术测定了烟粉虱若虫被球孢白僵菌处理48 h的转录组,并与未被处理的烟粉虱若虫转录组数据比对,发现了大量的差异表达基因,并挖掘了许多与烟粉虱若虫应对白僵菌侵染的免疫直接或间接相关的基因。本研究共组装得到非冗余Unigene 232 554个,其N50和N90分别为1 153 bp和260 bp,平均长度为674 24 bp。对所有的基因进行差异表达分析发现:以 $P<0.05$ 为标准筛选得到了1 166个差异表达基因,其中上调表达基因有474个,下调表达基因有692个,其中,与免疫相关的基因有405个;GO富集分析发现:有416个GO term有富集现象,包括156个生物学过程 (66 402个

Unigenes), 89 个细胞组分( 27 645个 Unigenes ) 和 154个分子功能( 73 417个Unigenes );KEGG 代谢通路分析将烟粉虱转录组1 145个DEG匹配到309个通路上, 其中76个通路得到了富集。但是关于这些基因的差异表达及其参与途径在烟粉虱若虫对于白僵菌侵染的免疫应答的功能与作用, 需要今后进一步深入开展研究。

烟粉虱若虫应对白僵菌侵染的转录组研究, 对于烟粉虱若虫与白僵菌的互作、烟粉虱若虫各种生物学途径的关键基因的发掘提供了数据基础, 为探寻白僵菌作用于烟粉虱若虫的重要靶标基因, 提高白僵菌在烟粉虱综合治理中的效率提供了丰富的基因信息及新的研究方向。

### 参考文献 (References)

- Brown JK, Frohlich DR, Rosell RC, 1995. The sweetpotato or silverleaf whiteflies: biotypes of *Bemisia tabaci* or a species complex? *Annu. Rev. Entomol.*, 40: 511–534.
- Byren DN, Bellows TS, 1991. Whitefly biology. *Annu. Rev. Entomol.*, 36:431–57.
- Faria M, Wraight SP, 2001. Biological control of *Bemisia tabaci* with fungi. *Crop Protection*, 20(9): 767–778.
- Liu TX, Stansly PA, 2009. Effects of relative humidity on efficacy of BotaniGuard™ (*Beauveria bassiana*) on nymphs of sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) on hibiscus in greenhouses. *Southwest Entomologist*, 32(2): 189–191.
- Liu Z, Lei Z, Hua B, Wang H, Liu T, 2010. Germination behavior of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) on *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) nymphs. *Journal of Entomology Science*, 45(4): 322–334.
- Liu Z, Lei Z, Hua B, Wang Y, Wen J, Huang H, 2006. Histopathological changes of *Bemisia tabaci* infected by *Beauveria bassiana*. *Plant Protection*, 32(3): 52–54. [刘召, 雷仲仁, 花保祯, 王音, 问锦曾, 黄虹, 2006. 烟粉虱感染白僵菌后的组织病理变化. 植物保护, 32(3): 52–54.]
- Ren J, Han XM, Liu Z, Lei ZR, 2013. Defense Response of Hemolymph in *Bemisia tabaci* to *Beauveria bassiana*. *China Vegetables*, (12): 61–65. [任洁, 韩雪梅, 刘昭, 雷仲仁, 2013. 烟粉虱血细胞对白僵菌的防御反应. 中国蔬菜, (12): 61–65.]
- Wang Z, Yan H, Yang Y, Wu Y, 2010. Biotyping and insecticide resistance status of the whitefly *Bemisia tabaci* from China. *Pest Management Science*, 66(2): 1360–1366.
- Wraight SP, Carruthers RI, Bradley CA, Jaronski ST, Lacey LA, Wood P, Galaini-Wraight S, 1998. Pathogenicity of the entomopathogenic fungi *Paecilomyces* spp. and *Beauveria bassiana* against the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 71: 217–226.
- Wraight SP, Carruthers RI, Jaronski ST, Bradley CA, Garza CJ, Galaini-Wraight S, 2000. Evaluation of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* for microbial control of the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Biological Control*, 17(3): 203–217.
- Xia J, Zhang CR, Zhang S, Li FF, Feng MG, Wang XW, Liu SS, 2013. Analysis of whitefly transcriptional responses to *Beauveria bassiana* infection reveals new insights into insect-fungus interactions. *PLoS ONE* 8(7): e68185.
- Zhang Y, Lei ZR, Wang HH, Ji QZ, 2013. Prokaryocyte expression and immune localization of HsbA in *Beauveria bassiana*. *Scientia Agricultura Sinica*, 46(21): 4534–4541. [张烨, 雷仲仁, 王海鸿, 吉青战, 2013. 球孢白僵菌 HsbA 蛋白的原核表达及免疫定位. 中国农业科学, 46(21): 4534–4541.]