

MED 烟粉虱钙结合蛋白的鉴定及表达分析*

李世香^{1,2**} 彭争科² 李传仁¹ 史彩华^{1,2} 王少丽²
谢文² 徐宝云² 张友军^{2***}

(1. 长江大学农学院, 荆州 434025; 2. 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

摘要 【目的】钙结合蛋白作为钙信号传导途径的组分, 通过与钙离子结合实现其生物学功能, 调控细胞信号传导和细胞生命周期等过程, 且钙结合蛋白可以通过与植物中钙离子结合降低钙离子浓度来保持昆虫的持续摄取。为明确钙结合蛋白在 MED (Mediterranean) 烟粉虱 *Bemisia tabaci* 体内的时空表达模式, 烟粉虱取食后钙结合蛋白的表达特征及取食不同寄主的烟粉虱体内钙结合蛋白的表达量变化情况。

【方法】利用 RT-PCR 和基因克隆得到烟粉虱钙结合蛋白 cDNA 序列, 并通过实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 技术分析其在烟粉虱不同组织、不同龄期、不同寄主以及烟粉虱饥饿诱导取食后不同时间点的表达模式。

【结果】生物信息学分析结果显示: 烟粉虱钙结合蛋白基因的开放阅读框为 669 bp, 编码一个由 222 个氨基酸组成的蛋白, 其 N 端包含一段长为 22 个 AA 的信号肽序列, C 末端具有钙离子结合位点。系统进化分析表明: 烟粉虱钙结合蛋白与半翅目昆虫关系最近, 分属同支。荧光定量 PCR 结果显示: 钙结合蛋白在烟粉虱头部的表达量显著高于胸部、腹部、足和翅的表达量; 钙结合蛋白在烟粉虱整个发育阶段均有表达, 4 龄若虫的表达量最高, 卵期表达量最低, 1-2 龄、3 龄、4 龄和成虫期的表达量分别为卵期表达量的 4.38 倍、5.47 倍、16.76 倍和 5.03 倍; 钙结合蛋白在取食棉花、辣椒和番茄 3 种不同寄主的烟粉虱中的表达量无显著性差异; 饥饿诱导取食后 1 h 的烟粉虱成虫钙结合蛋白的表达量显著高于取食 0 h, 为取食 0 h 的 2.12 倍。【结论】本研究克隆了烟粉虱钙结合蛋白基因并对其在烟粉虱中的表达模式进行分析, 为进一步明确烟粉虱钙结合蛋白功能研究奠定基础。

关键词 烟粉虱; 钙离子结合蛋白; 基因克隆; 表达分析

Identification and expression of the calcium-binding protein in MED *Bemisia tabaci* (Gennadius)

LI Shi-Xiang^{1,2**} PENG Zheng-Ke² LI Chuan-Ren¹ SHI Cai-Hua^{1,2}
WANG Shao-Li² XIE Wen² XU Bao-Yun² ZHANG You-Jun^{2***}

(1. College of Agriculture, Yangtze University, Jingzhou 434025, China;

2. Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract [Objectives] To clarify the temporal and spatial expression of calcium-binding protein in MED (Mediterranean) *Bemisia tabaci* after feeding on different hosts. A component of the calcium signaling pathway, the main function of the calcium-binding protein is to bind to calcium ions, regulating cell signaling and cell life cycle processes. Calcium-binding proteins can reduce the calcium ion concentration by binding to calcium ions in plants, thereby maintaining a continuous intake by insects. [Methods] The cDNA sequence of the *B. tabaci* calcium binding protein was amplified using the reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) and gene cloning, and its expression in all developmental tissues and stages, hosts, and after feeding on different plants, analyzed using Real-time quantitative PCR. [Results] Bioinformatics analysis indicates that the open reading frame of the *B. tabaci* calcium-binding protein gene is 669 bp, encoding a protein comprised of

*资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金 (31572014); 国家现代西甜瓜产业技术体系 (CARS-24-C-02); 蔬菜有害生物控制与优质栽培北京市重点实验室和中国农业科学院科技创新工程 (AAS-ASTIP-IVFCAAS)

**第一作者 First author, E-mail: 18972372632@163.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: zhangyoujun@caas.cn

收稿日期 Received: 2019-01-31; 接受日期 Accepted: 2019-03-18

222 amino acids. The N-terminus contains a signal peptide sequence of 22 AA and the C-terminal has a Ca^{2+} binding site. Phylogenetic analysis shows that the *B. tabaci* calcium-binding protein is closely related to that of other Hemipteran insects, and belongs to the same branch. The results of real-time PCR show that the expression of the calcium-binding protein in the head of *B. tabaci* was significantly higher than in the thorax, abdomen, leg and wing. The calcium-binding protein was expressed in every developmental stage of *B. tabaci*; expression was highest in fourth-instar nymphs and lowest in eggs. Expression levels in first, second, third and fourth instars, and in adults, were 4.38 times, 5.47 times, 16.76 times and 5.03 times, higher than in the egg stage, respectively. Feeding *B. tabaci* on pepper, tomato and cotton had no significant effect on the expression of the calcium-binding protein. The expression of the calcium-binding protein in adults that were allowed to feed 1 h after starvation was significantly (2.12 times) higher than in those fed 0 h after starvation. [Conclusion] The calcium-binding protein gene of *B. tabaci* can be successfully cloned and its expression pattern analyzed. The results of this study provide a foundation for further study of the function of this gene in the development of *B. tabaci*.

Key words *Bemisia tabaci*; calcium-binding protein; gene clone; expressing analysis

钙结合蛋白是对钙离子有高度亲和性且在与其它细胞成分相互作用时需要钙离子参与的一种蛋白质(彭胜军, 2012)。钙离子是所有真核生物中普遍存在且必不可少的第二信使, 在细胞功能的各个方面发挥着重要作用(Kudla *et al.*, 2010; Steinhorst and Kudla, 2014)。钙结合蛋白作为钙信号传导途径的组分, 通过对 Ca^{2+} 信号中的信息进行解码, 将 Ca^{2+} 信号传递给特定的下游反应(Batistič and Kudla, 2012)。大多数钙结合蛋白属于 EF-手型(EF-hand)蛋白, 其含有以螺旋-环-螺旋结构为特征的基序, 具有 11 至 14 个氨基酸的螺旋环, 可与 Ca^{2+} 结合(Grabarek, 2011)。在植物中, EF-手型钙结合蛋白的主要家族包括钙调蛋白(CaM), 钙调蛋白样蛋白(CML), 钙依赖性蛋白激酶(CDPK)和钙调神经磷酸酶 B 样蛋白(CBL)(Batistič and Kudla, 2012; Poovaiah *et al.*, 2013)。钙信号传导途径在植物防御病原体中起着重要作用(Kudla *et al.*, 2010; Batistič and Kudla, 2012)。据报道, 在感知病原体相关分子模式后, Ca^{2+} 升高是植物中最早的信号传导事件之一, 对植物病原体识别中的下游反应至关重要(Ranf *et al.*, 2011)。Arimura 和 Maffei (2010) 发现植食性昆虫侵染植物所分泌的口腔分泌物能够诱导植物中的 Ca^{2+} 瞬变, 影响植物钙信号传导途径对植食性昆虫的防御反应。Forisome 蛋白在钙离子激活筛管闭合机制中起到了重要作用, 蚜虫的钙结

合蛋白 Armet 能阻断 Forisome 蛋白对钙离子浓度的响应, 其通过降低钙离子浓度来抑制 Forisome 蛋白的形态转变, 导致 Forisome 的呈收缩状态, 这种收缩可以防止筛子元件的堵塞使韧皮部保持畅通并促进蚜虫从筛管中持续摄取, 具有直接抑制植物防御反应的作用(Will *et al.*, 2007; Carolan *et al.*, 2011)。褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 唾液中的钙结合蛋白 NISEF1 作为效应因子能够抑制寄主植物的防御反应, 从而增强褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 的侵染能力, 在褐飞虱与水稻的相互作用中发挥着重要作用(Ye *et al.*, 2017)。

烟粉虱 *Bemisia tabaci* (Gennadius) 属半翅目(Hemiptera)、粉虱科(Aleyrodidae)、小粉虱属(*Bemisia*), 是一种世界性的农业害虫, 其通过刺吸植物汁液, 分泌蜜露影响植物光合作用, 传播植物病毒等方式对农作物造成严重危害, 并带来巨大经济损失(Perring *et al.*, 1993; Gnankiné *et al.*, 2013), 据报道, 在世界上烟粉虱的寄主植物多达 600 种(Barbosa *et al.*, 2014)。同时, 烟粉虱是一个快速进化的复合种, 目前至少有 32 个不同的隐种, 且其寄主范围、适应性和地理分布等均有差异(Brown and Czosnek, 2002; Dinsdale *et al.*, 2010; De Barro *et al.*, 2011; 刘树生, 2012)。其中中东亚细亚 1 型(MEAM1)和地中海种群(MED)在所有烟粉虱隐种中入侵性最强、分布最广且危害最严重(刘树生,

2012)。

本文通过对 MED 烟粉虱钙结合蛋白进行基因克隆及生物信息学分析,明确烟粉虱钙结合蛋白在不同组织、不同龄期、不同寄主以及饥饿诱导取食后不同时间点的表达模式,为进一步明确烟粉虱钙结合蛋白功能研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试虫源: MED 烟粉虱取至中国农业科学院蔬菜花卉研究所室内种群(光周期 L:D = 14:10、温度为 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、相对湿度 $60\% \pm 10\%$),饲养期间从未接触农药或化学试剂。每 2-3 个月检测一次,检测是否与 MEAMII 烟粉虱发生种群混杂。

供试植物: 试验所用寄主植物棉花(中棉 49)、辣椒(中椒 4)和番茄种植于人工气候室内,温度为 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$,相对湿度 $60\% \pm 10\%$,光周期 L:D = 14:10。

1.2 不同龄期、不同组织、不同寄主以及饥饿诱导处理取食后烟粉虱样本的收集

不同龄期烟粉虱样品的收集: 将烟粉虱成虫放入装有健康无虫棉花苗的养虫笼($60\text{ cm} \times 60\text{ cm} \times 60\text{ cm}$)中,3 d 后将植株上的烟粉虱成虫全部移除,随后分别批量收集烟粉虱卵(约 300 粒)、1-2 龄若虫(约 100 头)、3 龄若虫(约 60 头)、4 龄若虫(约 40 头)和初羽化成虫(约 30 头);

不同组织烟粉虱样品的收集: 在解剖镜下将烟粉虱成虫分成头(包含唾液腺),胸,腹,足,翅五部分,分别收集样品。

不同寄主烟粉虱样品的收集: 分别收集烟粉虱棉花种群、辣椒种群和番茄种群初羽化成虫(约 30 头);

饥饿诱导处理取食后烟粉虱样本的收集: 将烟粉虱初羽化成虫饥饿处理 12 h 后,放入干净的番茄植株上,分别收集取食 0 h 和 1 h 的烟粉虱成虫;

每个处理样品收集 3 管,作为 3 次重复,收

集后放入 -80°C 冻存,用于 RNA 提取、反转录操作及 qRT-PCR 检测。

1.3 烟粉虱总 RNA 的提取、cDNA 的合成以及荧光定量 PCR

采用 Trizol (Trizol Reagent, 北京生化科技有限公司)方法对烟粉虱进行 RNA 抽提。对提取的 RNA 进行琼脂糖凝胶电泳,检测其完整性,选取 $\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280}$ 值在 2.0 附近的 RNA 进行 cDNA 的合成 (Prime Script first-strand cDNA synthesis kit, TaKaRa, Japan), RNA 定量到 $1\text{ }\mu\text{g}$,于 -20°C 保存备用。

荧光定量 PCR 引物参照表 1,荧光定量 PCR 反应体系: $1\text{ }\mu\text{L}$ cDNA, $10\text{ }\mu\text{L}$ $2 \times$ SuperReal PreMix Plus, $0.4\text{ }\mu\text{L}$ $50 \times$ ROX Reference Dye (TIANGEN, China),上下游引物各 $0.6\text{ }\mu\text{L}$,加 ddH_2O 补足体系至 $20\text{ }\mu\text{L}$ 。荧光定量 PCR 反应程序为 95°C 预变性 10 min, 95°C 变性 15 s, 60°C 退火 30 s, 72°C 延伸 30 s, 40 个循环(收集荧光信号); 选用 EF-1 α 和 RPL29 作为内参基因。钙结合蛋白荧光检测均设置 3 次技术重复和 3 次生物学重复用于数据分析。依据各样品和其相对应的内参基因的 Ct 值,参照 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 方法进行分析。不同样本之间的差异采用 SPSS19.0 软件进行统计分析,以 Duncan's 新复极差方法进行差异显著性检验。

1.4 基因的克隆与序列分析

以上述合成的 cDNA 为模板,利用特异性引物 F: ATGTTCCCTACGCTCGTGTGT 和 R: CTACAGTTCATCGTGTGTTGGG 扩增钙结合蛋白基因。反应体系为: cDNA 模板 $1\text{ }\mu\text{L}$, $5 \times$ PCR buffer $12.5\text{ }\mu\text{L}$,上下游引物各 $1\text{ }\mu\text{L}$,然后超纯水补足至 $25\text{ }\mu\text{L}$,PCR 扩增条件 95°C 预变性 5 min; 95°C 30 s, 60°C 退火 30 s, 72°C 延伸 30 s, 35 个循环;最后 72°C 延伸 10 min。扩增产物用 2% 的琼脂糖凝胶电泳检测,胶回收目的片段 (GelExtraction Kit 北京全式金生物技术有限公司),回收的扩增片段连接 T1 载体(北京全式金生物技术有限公司),转化到感受态大肠杆菌中,

经过蓝白斑和抗生素筛选,挑取多个白色菌落扩大培养,选取 PCR 鉴定呈阳性克隆的菌液送至北京擎科生物技术有限公司进行测序分析,利用 DNAMAN6 进行序列的比对。ExPASyPro-temics Server (http://cn.expasy.org/tools/pi_tool.html) 预测蛋白质的理化性质。用 SignalP 4.1 软件 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>) 进行信号肽预测,跨膜结构域的预测利用 TMHMM2.0. (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/>)。

1.5 烟粉虱钙结合蛋白的系统进化分析

运用 MEGA6.0 软件中的邻接法 (Neighbor-joining) 将钙结合蛋白推导出来的氨基酸序列与 NCBI 已公布的其他昆虫钙结合蛋白:埃及伊蚊 (*Aedes aegypti*, 登录号 XP 001648889.1)、白纹伊蚊 (*Aedes albopictus*, 登录号 XP 019558739.1)、

地中海实蝇 (*Ceratitidis capitata*, 登录号 XP 004537497.1)、中欧山松大小蠹 (*Dendroctonus ponderosae*, 登录号 XP 019773768.1)、赤拟谷盗 (*Tribolium castaneum*, 登录号 XP 970906.1)、牛鞭草蚜 (*Sipha flava*, 登录号 XP 025422238.1)、高粱蚜 (*Melanaphis sacchari*, 登录号 XP 025192961.1)、棉铃虫 (*Helicoverpa armigera*, 登录号 XP 021187883.1)、夏威夷红蛱蝶 (*Vanessa tameamea*, 登录号 XP 026500505.1)、斜纹夜蛾 (*Spodoptera litura*, 登录号 XP 022832672.1)、小黄家蚁 (*Monomorium pharaonis*, 登录号 XP 012542000.1)、阿根廷蚁 (*Linepithema humile*, 登录号 XP 012229019.1)、蚂蚁 (*Trachymyrmex cornetzi*, 登录号 XP 018360422.1) 的氨基酸序列进行系统进化树的构建。各分支均进行 1 000 次重复检验。

表 1 烟粉虱钙结合蛋白的 qRT-PCR 引物
Table 1 Primers for qRT-PCR of calcium-binding protein in *Bemisia tabaci*

基因名称 Gene name	正向引物 (5'-3') Forward primer (5'-3')	反向引物 (5'-3') Reverse primer (5'-3')
钙结合蛋白 Calcium-binding protein	ATGTTCCCTACGCTCGTGTGT	GGGTTTCGGAGATCTTGCTCT
EF-1 α	TAGCCTTGTGCCAATTTCCG	CCTTCAGCATTACCGTCC
RPL29	TCGGAAAATTACCGTGAG	GAACCTGTGATCTACTCCTCTCGTG

2 结果与分析

2.1 烟粉虱钙结合蛋白全长序列分析

通过基因克隆的方法得到烟粉虱的钙结合蛋白基因全长 (GenBank 登录号为 XP_018909727.1) (图 1)。其开放阅读框 (ORF) 全长序列为 669 bp, 序列分析显示, 烟粉虱钙结合蛋白是一个长为 222 个氨基酸的蛋白, 预测分子量为 24.55 ku, 理论等电子点 pI 为 4.64。使用 SignalP 4.1 及 TMHMM2.0 预测其信号肽为 21 个氨基酸且不具有跨膜信号。在靠近氨基酸序列的 C-末端具有钙结合位点。

2.2 烟粉虱钙结合蛋白与其他昆虫的系统进化分析

运用 MEGA6.0 软件中的邻接法 (Neighbor-joining) 将钙结合蛋白推导出来的氨基酸序列与

NCBI 已公布的其他昆虫钙结合蛋白的氨基酸序列进行系统进化树的构建(图 2)。系统进化树的分析结果表明: 烟粉虱钙结合蛋白与半翅目昆虫关系最近, 分属同支, 与膜翅目的昆虫进化关系最远。

2.3 钙结合蛋白在烟粉虱中的表达模式

荧光定量 PCR 结果分析表明: 钙结合蛋白在烟粉虱各个组织中都有表达, 烟粉虱的头部中钙结合蛋白的表达量最高, 翅部钙结合蛋白的表达量最低, 且头部中表达量显著高于其他组织 (图 3:A)。钙结合蛋白在烟粉虱生长发育的各个时期均有表达, 钙结合蛋白在烟粉虱卵期的表达量最低, 显著低于其他龄期, 4 龄若虫时期表达量最高, 显著高于其他龄期, 在烟粉虱 1-2 龄、3 龄、4 龄、成虫期的表达量分别为烟粉虱卵期的表达量的 4.38 倍、5.47 倍、16.76 倍和 5.03 倍 (图 3:B)。

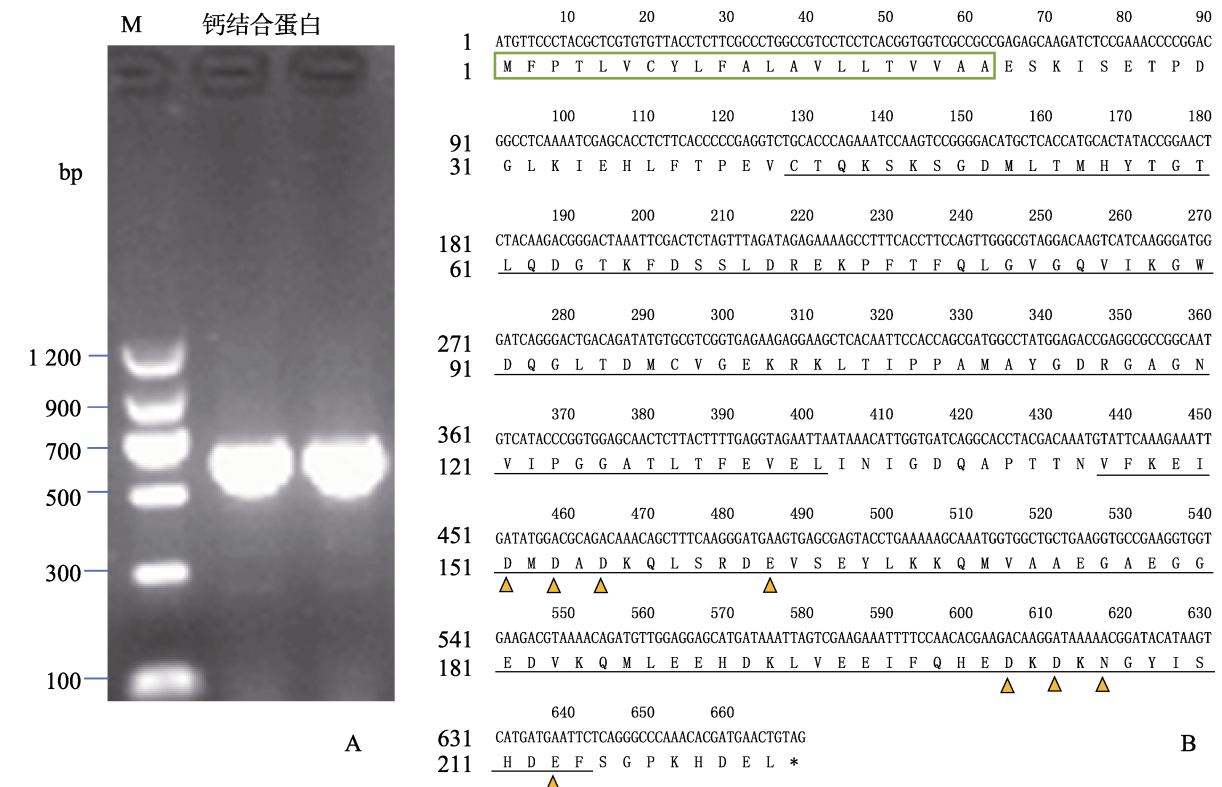


图 1 钙结合蛋白序列分析
Fig. 1 Analysis of calcium-binding protein sequence

A. 钙结合蛋白全长克隆；B. 烟粉虱钙结合蛋白核酸序列及其编码的氨基酸序列。M：DNA 分子质量标准；钙结合蛋白：两个重复的 PCR 产物图。方框内为预测的信号肽，黑色单下划线为两个保守结构域，三角标记为钙结合位点。
A. Amplification of calcium-binding protein; B. Nucleotide and deduced amino acid sequences of calcium-binding protein .
M: DNA molecular weight marker; Calcium-binding protein: Two PCR product. Within the box is the predicted signal peptide, black underlined for two conserved domains, and triangle labeled for Ca^{2+} binding sites.

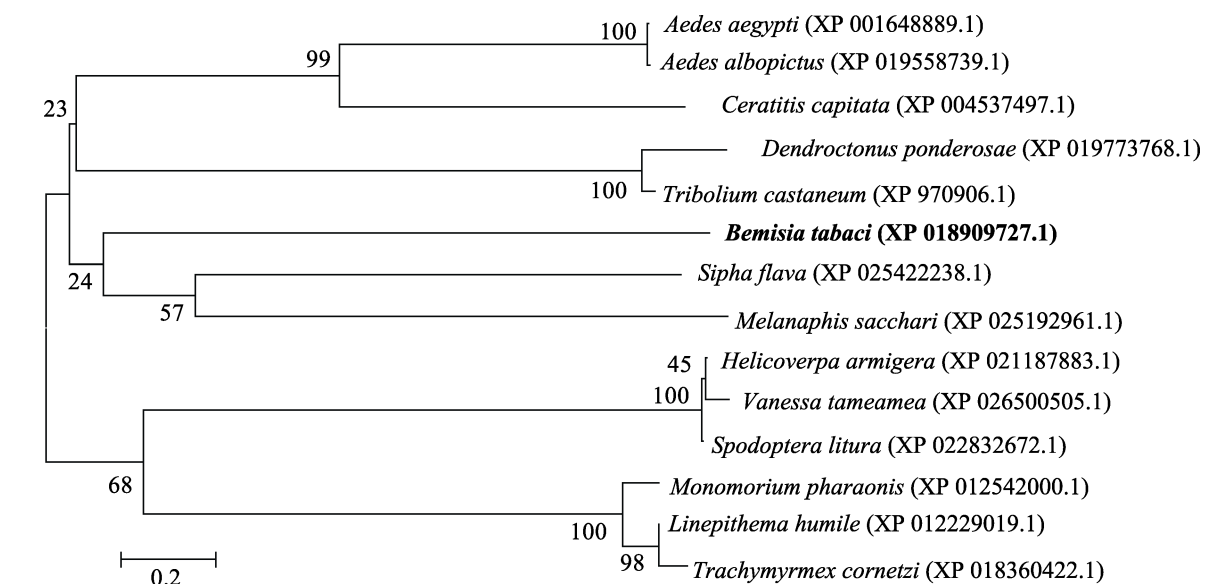


图 2 烟粉虱钙结合蛋白与其他昆虫的系统进化分析
Fig. 2 Phylogenetic relationships of calcium-binding protein sequences from *Bemisia tabaci* and other insects

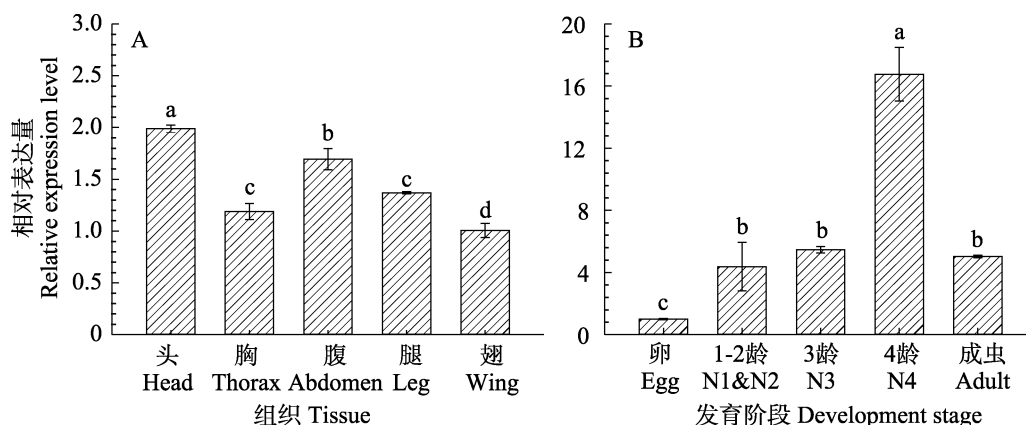


图3 钙结合蛋白在烟粉虱中的表达模式

Fig. 3 Expression pattern of calcium-binding protein in *Bemisia tabaci*

A. 钙结合蛋白在烟粉虱不同组织的差异表达分析；B. 钙结合蛋白在烟粉虱不同龄期的差异表达分析。

柱上标有不同字母表示不同条件下的显著性差异水平 ($P < 0.05$)。下图同。

A. Differential expression of calcium-binding protein in different tissues of *Bemisia tabaci*.

B. Differential expression of calcium-binding protein in different stages of *Bemisia tabaci*. Histogram with different letters indicate the level of significant difference under different conditions ($P < 0.05$). The same below.

2.4 饥饿诱导取食后烟粉虱钙结合蛋白的表达分析

荧光定量 PCR 检测烟粉虱饥饿诱导后取食 0 h 和 1 h 的烟粉虱成虫钙结合蛋白的表达量表明：取食 1 h 的烟粉虱成虫钙结合蛋白的表达量显著高于取食 0 h 的烟粉虱成虫钙结合蛋白的表达量，为取食 0 h 的 2.12 倍（图 4）。

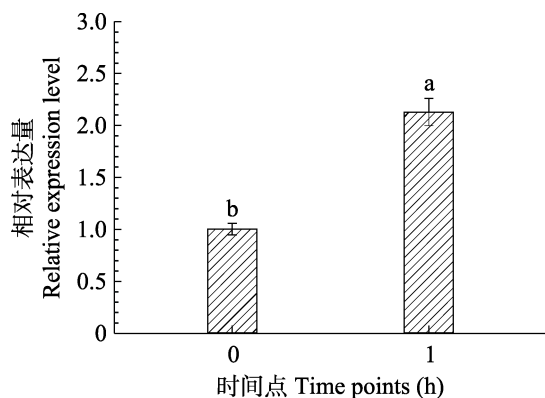


图4 烟粉虱饥饿诱导取食后钙结合蛋白的相对表达量

Fig. 4 Relative expression levels of calcium-binding protein after feeding with *Bemisia tabaci*

2.5 取食不同寄主的烟粉虱钙结合蛋白的表达谱分析

利用荧光定量 PCR 分析取食棉花、辣椒和

番茄的烟粉虱钙结合蛋白的表达谱，结果表明：取食辣椒和番茄的烟粉虱钙结合蛋白的表达量略高于取食棉花的烟粉虱钙结合蛋白的表达量，但三者之间无显著性差异（图 5）。

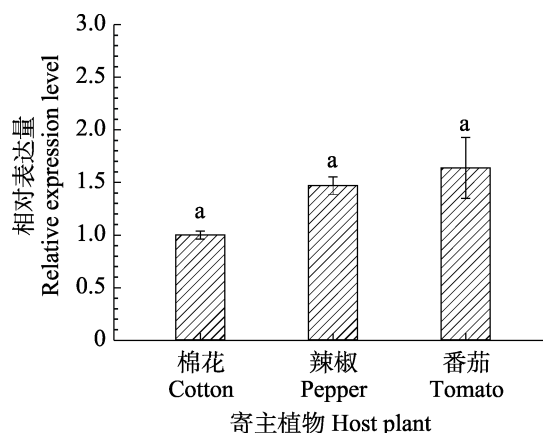


图5 取食不同寄主的烟粉虱钙结合蛋白的相对表达量

Fig. 5 Relative expression levels of calcium-binding protein when *Bemisia tabaci* fed on different hosts

3 讨论

本研究首次克隆了烟粉虱钙结合蛋白的基因序列，并对该基因编码的氨基酸序列进行了生物信息学分析。分析结果表明，该基因具有钙结合蛋白的典型特征，具有 EF-hand 保守结构域以及保守的钙结合位点。钙结合蛋白基因编码的氨

基酸序列的 N 端具有一个由 22 个氨基酸组成的信号肽,且其无跨膜结构域,表明它具有外分泌蛋白的特征。从系统进化树的分析结果可以看出,烟粉虱的钙结合蛋白与半翅目的蚜科昆虫的同源性较高,而与其他目的昆虫在进化树上分属不同分支,说明在功能上可能已与其他目昆虫的钙结合蛋白产生了一定的分化。

钙在生命调节过程中发挥着重要作用(Dowd, 1995),是生命活动最重要的基本元素之一,是有机体赖以整合内环境稳态和动态的基础(Bhagwat and Aravind, 2007)。钙结合蛋白作为最常见的生物信号载体,通过与钙离子结合实现其生物学功能,调控细胞信号传导和细胞生命周期等过程(彭胜军, 2012)。荧光定量 PCR 结果证明钙结合蛋白在烟粉虱的不同生长发育时期和不同的器官中均有表达(图 3:A, B),验证了钙结合蛋白的重要性,暗示着钙结合蛋白于烟粉虱的各个生长发育阶段都有着重要的影响。

褐飞虱唾液中的钙结合蛋白 NISEF1 在唾液腺高表达,显著高于其他组织(Ye *et al.*, 1993),钙结合蛋白在烟粉虱头部中的表达量最高,显著高于其他组织(图 3:A),与褐飞虱 NISEF1 的表达相对一致,且烟粉虱饥饿诱导后取食 1 h 时烟粉虱钙结合蛋白表达量显著高于 0 h 时的表达量(图 4),表明钙结合蛋白可能与烟粉虱的取食相关。钙结合蛋白在烟粉虱卵期的表达量最低,显著低于其他龄期,4 龄若虫时期表达量最高,显著高于其他龄期(图 3:B),卵期表达量相对较低可能与烟粉虱卵期不取食有关,而其在 4 龄若虫期高度表达的原因尚不清楚,有待进一步研究。

烟粉虱生态适应性广,是一种高度多食性昆虫,寄主范围十分广泛。据报道,在世界上烟粉虱的寄主植物多达 600 种(Barbosa *et al.*, 2014)。棉花、辣椒和番茄为烟粉虱常见寄主。荧光定量结果分析表明:取食棉花、辣椒和番茄 3 种不同寄主后烟粉虱钙结合蛋白的表达量之间无显著性差异(图 5)。表明钙结合蛋白可能对烟粉虱取食不同寄主方面无明显作用,也符合烟粉虱是多食性昆虫这一特征。

本研究以烟粉虱为试验材料,利用 RT-PCR 方法克隆了烟粉虱钙结合蛋白基因序列,并通过实时荧光定量 PCR 分析烟粉虱钙结合蛋白基因在 mRNA 水平上的动态变化规律,以阐明钙结合蛋白基因表达调控的分子机制,为进一步明确钙结合蛋白在烟粉虱生长发育中的作用奠定基础。

参考文献 (References)

- Arimura G, Maffei ME, 2010. Calcium and secondary CPK signaling in plants in response to herbivore attack. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 400(4): 455–460.
- Barbosa LF, Marubayashi JM, De Marchi BR, Yuki VA, Pavan MA, Moriones E, Navas-Castillo J, Krause-Sakate R, 2014. Indigenous American species of the *Bemisia tabaci* complex are still widespread in the Americas. *Pest Management Science*, 70(10): 1440–1445.
- Batistić O, Kudla J, 2012. Analysis of calcium signaling pathways in plants. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1820(8): 1283–1293.
- Bhagwat M, Aravind L, 2007. Psi-blast tutorial//Comparative Genomics. New Jersey: Humana Press. 177–186.
- Brown JK, Czosnek H, 2002. Whitefly transmission of plant viruses. *Advances in Botanical Research*, 36(2): 65–76.
- Carolan JC, Caragea D, Reardon KT, Mutti NS, Dittmer N, Pappan K, Cui F, Castaneto M, Poulain J, Dossat C, Tagu D, 2011. Predicted effector molecules in the salivary secretome of the pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*): a dual transcriptomic/proteomic approach. *Journal of Proteome Research*, 10(4): 1505–1518.
- De Barro PJ, Liu SS, Boykin LM, Dinsdale AB, 2011. *Bemisia tabaci*: a statement of species status. *Annual Review of Entomology*, 56: 1–19.
- Dinsdale A, Cook L, Riginos C, Buckley YM, De Barro P, 2010. Refined global analysis of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodidae: Aleyrodidae) mitochondrial cytochrome oxidase 1 to identify species level genetic boundaries. *Annals of the Entomological Society of America*, 103(2): 196–208.
- Dowd DR, 1995. Calcium regulation of apoptosis. *Advances in Second Messenger and Phosphoprotein Research*, 30(2): 255–280.
- Gnankiné O, Mouton L, Savadogo A, Martin T, Sanon A, Dabire RK, Vavre F, Fleury F, 2013. Biotype status and resistance to neonicotinoids and carbosulfan in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in Burkina Faso, West Africa. *International Journal of Pest Management*, 59(2): 95–102.
- Grabarek Z, 2011. Insights into modulation of calcium signaling by magnesium in calmodulin, troponin C and related EF-hand proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell*

- Research, 1813(5): 913–921.
- Kudla J, Batistič O, Hashimoto K, 2010. Calcium signals: the lead currency of plant information processing. *The Plant Cell*, 22(3): 541–563.
- Liu SS, 2012. *Bemisia tabaci* is a complex species. *Chinese Journal of Biological Control*, 28(4): 466–466. [刘树生, 2012. 烟粉虱是一个物种复合体. 中国生物防治学报, 28(4): 466–466.]
- Peng SJ, 2012. Computational analysis of calcium binding sites in proteins. Master degree dissertation. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology. [彭胜军, 2012. 钙结合蛋白及作用位点的生物信息学研究. 硕士学位论文. 武汉: 华中科技大学.]
- Perring TM, Cooper AD, Rodriguez RJ, Farrar CA, Bellows TS, 1993. Identification of a whitefly species by genomic and behavioral studies. *Science*, 259(5091): 74–77.
- Poovaliah BW, Du L, Wang H, Yang T, 2013. Recent advances in calcium/calmodulin-mediated signaling with an emphasis on plant: microbe interactions. *Plant Physiology*, 163(2): 531–542.
- Ranf S, Eschen-Lippold L, Pecher P, Lee J, Scheel D, 2011. Interplay between calcium signalling and early signalling elements during defence responses to microbe-or damage-associated molecular patterns. *The Plant Journal*, 68(1): 100–113.
- Steinhorst L, Kudla J, 2014. Signaling in cells and organisms—calcium holds the line. *Current Opinion in Plant Biology*, 22(6): 14–21.
- Will T, Tjallingii WF, Thönnessen A, van Bel AJ, 2007. Molecular sabotage of plant defense by aphid saliva. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(25): 10536–10541.
- Ye W, Yu H, Jian Y, Zeng J, Ji R, Chen H, Lou Y, 2017. A salivary EF-hand calcium-binding protein of the brown planthopper *Nilaparvata lugens* functions as an effector for defense responses in rice. *Scientific Reports*, 7(1): 40498.



番茄潜麦蛾 *Tuta absoluta* (Povolny)成虫

番茄潜麦蛾隶属于鳞翅目 (Lepidoptera) 麦蛾科 (Gelechiidae), 原产南美洲。该虫 2006 年入侵西班牙, 随后迅速扩散到北非和欧洲许多国家。番茄潜叶蛾严重危害温室和露天的番茄, 受害的番茄果实会丧失经济价值, 经济损失可达 50%-100%, 国际马铃薯中心认为番茄潜叶蛾是威胁全球番茄生产的最严重害虫之一。

番茄潜麦蛾成虫体长 5-7 mm, 翅展 8-10 mm, 触角丝状 (念珠状)、鳞片银灰色、前翅具黑色斑点。每年发生 10-12 代, 成虫夜行性, 白天躲藏在叶子之间, 每只雌虫一生可以产卵 250-300 枚。

(张润志, 中国科学院动物研究所)