

基于代谢组和转录组的白蜡虫吊糖成分及其作用分析*

赵遵岭^{1**} 于淑惠² 周文武³ 祝增荣³ 郭忠建⁴ 杨 璞^{1***}

(1. 中国林业科学研究院资源昆虫研究所, 国家林业局资源昆虫培育与利用重点实验室, 昆明 650224;
2. 昆明学院农学与生命科学学院, 昆明 650224; 3. 浙江大学昆虫科学研究所, 水稻生物学国家重点实验室,
杭州 310058; 4. 江苏大学生命科学研究院, 镇江 212000)

摘 要 【目的】白蜡虫 *Ericerus pela* Chavannes 在育卵期会大量分泌吊糖(蜜露), 前期研究发现吊糖容易受到真菌的侵染, 但是白蜡虫吊糖的生物学意义并不清楚。本研究旨在了解白蜡虫吊糖的成分以及该时期雌成虫基因表达特点, 为更深入的了解白蜡虫分泌吊糖对于白蜡虫发育的意义奠定基础。【方法】对吊糖分泌期的白蜡虫雌虫进行转录组测序分析, 对吊糖组分进行代谢组学分析, 并对转录组与代谢组进行联合分析。【结果】在白蜡虫吊糖组分中, 麦芽糖醇含量最高, 其次为半乳糖醇, 之后为海藻糖、水苏糖等其他种类糖物质, 此外, 还含有多种少量氨基酸、脂肪、维生素等代谢物质或次生代谢物质; 关联分析表明, 代谢途径 (Metabolic pathways)、碳代谢 (Carbon metabolism) 和氨基酸合成 (Biosynthesis of amino acids) 占主要部分; 与 N-聚糖生物合成 (Various types of N-glycan biosynthesis) 相关通路的基因家族在白蜡虫发生了收缩; 与代谢产物关联的基因 Q96JB1 家族也发生了收缩, 该基因与吊糖中的 L-谷氨酸、乳清酸盐以及柠檬酸盐相关。【结论】白蜡虫吊糖主要成分不利于天敌寄生或者与其它昆虫形成互利共生, 一些与吊糖成分相关的基因家族在白蜡虫中发生了收缩, 说明白蜡虫吊糖可能是其分泌的不利的或多余的代谢物。

关键词 白蜡虫; 吊糖; 转录组分析; 代谢组学分析; 基因家族

The composition and function of the honeydew secreted by *Ericerus pela* as deduced from metabolome and transcriptome data

ZHAO Zun-Ling^{1**} YU Shu-Hui² ZHOU Wen-Wu³ ZHU Zeng-Rong³
GUO Zhong-Jian⁴ YANG Pu^{1***}

(1. Research Institute of Resource Insects, Chinese Academy of Forestry, Key Laboratory of Cultivating and Utilization of Resource Insects of State Forestry Administration, Kunming 650224, China; 2. School of Agronomy and Life Sciences, Kunming University, Kunming 650224, China; 3. Institute of Insect Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China;
4. Institute of Life Sciences, Jiangsu University, Zhenjiang 212000, China)

Abstract [Objectives] Female *Ericerus pela* can secrete a considerable amount of honeydew during the incubation period. We previously found that this honeydew was prone to contamination by certain fungi. However, the biological significance of the honeydew secreted by female *E. pela* is still largely unclear. This study aimed to understand the composition of the honeydew secreted by *E. pela*, and provide an overview of gene expression in female adults during this period. We hope the results will lead to a deeper understanding of the biological significance of honeydew secretion by *E. pela*. [Methods] The transcriptome of incubating female *E. pela* period was sequenced and the metabolome of the honeydew secreted by females

*资助项目 Supported projects: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (CAFYBB2017ZB005); 国家自然科学基金项目 (31572337); 国家林业局林业公益性行业科研专项经费重大项目 (201504302)

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

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: zjuyangpu@aliyun.com

收稿日期 Received: 2019-05-23; 接受日期 Accepted: 2019-08-26

was analyzed. **[Results]** The single greatest component of honeydew was maltitol, followed by galactositol, trehalose, triose and other sugars. Honeydew also contained a small amount of various amino acids, fats, vitamins, and other metabolites or secondary metabolites. Combining the transcriptome and metabolomic data revealed that the main pathways were “metabolic”, “carbon” and “biosynthesis of amino acids”. The gene family related to ‘N-glycan biosynthesis’, and another containing the gene Q96JB1 with the corresponding metabolites citrate, orotate and L-glutamate, were contracted. **[Conclusion]** The main components of the honeydew secreted by *E. pela* are not beneficial for parasitic biological control agents or for mutualism with other insects. Some gene families related to the components of honeydew have been contracted. These results show that the honeydew secreted by *E. pela* contains unnecessary metabolites, or may be harmful to female *E. pela*.

Key words *Ericerus pela*; honeydew; transcriptome analysis; metabolomics analysis; gene family contraction

植物韧皮部包含光合产物、有机酸、植物激素、次生代谢物质以及昆虫可利用的糖分、氨基酸、脂肪、维生素和矿物质等,为昆虫提供了丰富的营养来源(Baker, 2000; 刘勇等, 2011)。刺吸式口器昆虫吸取植物维管组织内部的汁液,由于植物汁液中的营养成分并不完全被昆虫吸收利用,多余的可利用糖分、氨基酸等营养成分以及不加以利用的次生有害物质会伴随昆虫代谢物一起排出体外,被称为“蜜露 Honeydew”(Dungan *et al.*, 2007)。

以植物韧皮部为食并分泌蜜露的半翅目昆虫类群包括介壳虫 Coccoidea、粉蚧 Pseudococcus、木虱 Psyllidae、角蝉 Membracidae、叶蝉 Cicadellidae 以及沫蝉 Frogopper 等(Moya-Raygoza and Martinez, 2014),其中,介壳虫是受蜜露影响比较明显的物种。与其它半翅目昆虫不同,介壳虫附肢退化,固定寄生在寄主植物枝条上,雌虫终生不能移动,靠吸取高等植物汁液获得营养(Gullan and Kosztarab, 1997)。蜜露是介壳虫适应寄主植物生存生理代谢的产物,对介壳虫生长繁殖、种群扩散具有重要作用(Holldobler and Wilson, 1994)。比如蚂蚁取食介壳虫蜜露时,可以帮助介壳虫迁移至有新鲜食源的地方,有利于介壳虫种群的扩散,同时蚂蚁可以赶走介壳虫的天敌,为介壳虫提供防御性保护(Holldobler and Wilson, 1994; Moya-Raygoza and Martinez, 2014)。由此可见,蜜露是介壳虫与蚂蚁取食共生的纽带,在介壳虫与蚂蚁之间复杂关系的进化中担任重要角色。

对于其他生物而言,蜜露是营养成分丰富的

天然培养基,如昆虫共生菌或对昆虫本体有致命作用的真菌等(Beggs *et al.*, 2005; Wardle *et al.*, 2010; 薛皎亮等, 2010; Xie *et al.*, 2012);同时,蜜露中的挥发性物质能够引诱天敌,帮助天敌寻找昆虫寄生或捕食,是一种十足的接触式利它素(Bouchard and Cloutier, 1984; 陆宴辉等, 2005; Wäckers *et al.*, 2008)。因此,蜜露在不同介壳虫类群中的作用可能具有多样性。

白蜡虫 *Ericerus pela* Chavannes 是一种典型的介壳虫,育卵期的雌成虫虫体逐渐增大由腹部向背板拱起最后形成空腔球形虫囊,开始排出透明、味甜、有粘性的蜜露,称为“吊糖”(张长海和刘化琴, 1997)。课题组前期研究发现,白蜡虫吊糖很容易被真菌感染,并造成白蜡虫大量死亡,经分析发现白蜡虫主要受到两种致命真菌 *Cladosporium langeronii*、*C. sphaerospermum* 的感染(Sun *et al.*, 2018);同时,白蜡虫吊糖的产生与最后消失的过程伴随着虫体的发育,可能与白蜡虫代谢生理活动密切相关。为了解白蜡虫吊糖的成分以及该时期雌成虫基因表达特点,本研究分析了白蜡虫育卵期转录组与所分泌吊糖的代谢组,为更深入地了解白蜡虫分泌吊糖对于白蜡虫发育的意义奠定基础。

1 材料与方法

1.1 样品采集

于中国林业科学研究院资源昆虫研究所温室大棚所种女贞树上采集处于吊糖分泌期的白蜡虫雌虫(图 1),每个虫体单独放于一个离心

管中并使用 ddH₂O 对其漂洗 3 次, 加入 TRIzol Reagent (Invitrogen, 美国) 500 mL 对其充分研磨, 补足至 1 mL, 静置 20 min 左右使研磨虫体裂解并储存于 -80 °C 备用。

白蜡虫雌虫所分泌的吊糖分别收集于与白蜡虫雌虫样品对应编号的离心管中, 直接冻存于 -80 °C 冰箱中。



图 1 处于分泌吊糖时期的白蜡虫雌虫以及清澈透亮的吊糖

Fig. 1 A female *Ericerus pela* excreting a drop of honeydew

1.2 转录组测序及生物信息学分析

1.2.1 RNA 提取 白蜡虫雌虫总 RNA 的提取按照 TRIzol Reagent (Invitrogen, 美国) 试剂盒操作说明进行, 总 RNA 的完整性以及浓度、纯度等采用 Nanodrop (Thermo Scientific, NC 2000, 美国) 和 Agilent 2100 Bioanalyzer (美国) 进行检测。

1.2.2 转录组测序及数据整理 总 RNA 中带有 polyA 结构的 mRNA 通过 Oligo(dT) 磁珠进行富集, 将其打断为 200-300 bp 的 RNA 片段, 以此 RNA 片段为模板, 构建 cDNA 文库。文库片段富集采用 PCR 扩增进行, 筛选文库为 300-400 bp 大小, 利用 Agilent 2100 Bioanalyzer 质检文库。基于 Illumina HiSeq 测序平台, 利用 Next-Generation Sequencing (NGS) 对所构文库进行双末端 (Paired-end, PE) 测序。过滤掉低质量 reads 得 clean reads。之后, clean reads 通过 Trinity 软件 (Grabherr, 2011) 基于 DBG (de Bruijn graph) 原理进行 de novo 组装得转录本, 获得

unigene 序列。

1.2.3 表达量分析 每个样品 clean reads 通过 RSEM 软件比对到转录本参考序列, 统计 reads 并计算 FPKM (Fragments per kilobase million) 值, 分析 FPKM 分布密度。此外, 对测序饱和度以及基因覆盖度作简要分析。

1.2.4 功能注释 将 unigene 与 NR (NCBI non-redundant protein sequences)、GO (Gene ontology)、KEGG (Kyoto encyclopedia of genes and genome)、eggNOG (Evolutionary genealogy of genes: Non-supervised orthologous groups) 以及 SwissProt 等数据库比对进行功能注释, 获得相关功能信息。

1.2.5 基因家族扩张与收缩分析 首先, 利用转录组测序获得的 unigene 进行拼接, 预测开放阅读框 (Open reading frame, ORF), ORF 预测完整的与其他 14 个物种的 Coding sequence (CDS) 序列通过 blast 软件将其两两比对, 并使用 OrthoMCL 软件鉴定比对结果中的家族基因, 按照不同的基因家族进行分类。之后, 从不同基因家族分类中筛选获得单拷贝同源基因, 利用 Muscle 软件进行多重序列比对并构建进化树, 根据已发布过的物种分化时间 (<http://www.timetree.org/>) 以及进化树构建结果, 通过 MCMCTREE 软件推演进化树分支分化的时间, 利用 CAFE 软件以分化时间进行基因家族的收缩与扩张分析, 并对获得的收缩扩张基因进行 GO 和 KEGG 富集分析。

1.3 吊糖代谢组学分析

1.3.1 吊糖样品准备 吊糖在 4 °C 环境下进行溶解, 因单个白蜡虫分泌吊糖量较少, 故将处于同一阶段的 5 只白蜡虫所分泌的吊糖混合于一支管中, 作为一个样品用于实验检测, 共 5 组。

1.3.2 吊糖组分提取 在每组样品中加入甲醇: 乙腈: 水=2: 2: 1 (v/v) 混合液 400 μL, 振荡混匀, 冰上 2 次 30 min 超声破碎, -20 °C 孵育 1 h 使蛋白质沉淀。之后 4 °C 13 000 r/min 离心 15 min 收集上清并冻干, 保存于 -80 °C 备用。质谱上样分析前加入 100 μL 50 % 乙腈水溶液重新

溶解,涡旋振荡混匀,在 4℃ 下,14 000 × g 离心 15 min,取上清进行上样分析。

1.3.3 UPLC-Q-TOF MS 样品分析 吊糖组分采用 Agilent 1290 Infinity LC (美国)超高效液相色谱系统(Ultra - high performance liquid chromatography system, UHPLC)进行样品组份检测。通过 Triple - TOF 5600 质谱仪(AB SCIEX,美国),采用电喷雾电离(ESI)正、负离子模式检测分析,并利用 Information dependent acquisition (IDA)采用 High sensitivity 模式通过获得二级质谱。

1.3.4 质谱分析数据处理 利用 ProteoWizard 将原始数据转换为.mzXML 格式,通过 XCMS 程序对样品离子峰对齐,并提取峰面积和校正保留时间。采用精确质量数匹配(< 0.025%)和二级谱图匹配的方式鉴定代谢物,对已有数据库进行检索。

1.3.5 代谢组和转录组关联分析 代谢组与转录组的关联分析是通过基于 perl 和 python 自建应用程序进行的,提交数据后,应用程序解析输入文件,以匹配基因标识符和代谢物名称到 KEGG 数据库,之后,对转录组数据与代谢途径涉及基因、蛋白、酶等进行比较,结果概述了目前 KEGG 数据库版本中所选物种的基因数量和代谢产物,特征匹配到输入文件中的数量以及显著特征匹配的数量。最后,通过 Fisher's exact test,每个代谢通路表给出了基因和代谢物的特征匹配和显著特征匹配的 *P* 值(Garcia-Alcalde *et al.*, 2011; Wettersten *et al.*, 2015)。

2 结果与分析

2.1 白蜡虫雌虫转录组

白蜡虫雌虫样品经转录组测序共获得 reads 40 531 190 条,经过滤后,获得 clean reads 40 010 086 条, clean data 为 6.02 Gb,通过 Trinity 软件对转录组进行 de novo 组装,共获得转录本 118 162 条,获得 69 861 条 unigene,平均长度 806 bp,GC 含量 36.68%,转录组数据获得良好。基因表达量分析,FPKM 值在 1-10 范围内分布占主要部分,FPKM > 10 分布仍较多,说明测序

片段长度较好,基因表达丰度高;FPKM > 5 的曲线达到饱和,说明已得测序数据满足基因表达定量的要求。reads 基因覆盖度表明,峰宽度均匀未有偏向,表明 reads 基因覆盖分布均一。

对获得的 69 861 条 unigene 与 NR、GO、KEGG、eggNOG 以及 SwissProt 等数据库进行比对($E\text{-value} \leq 10^{-5}$),在所有数据库中都得到注释的仅有 2 659 条,占总数的 3.81%。其中,NR 数据库中得到注释的有 16 162 (23.13%)条,是 unigene 得到注释最多的数据库,其中,与可分泌蜜露的豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* 和麦双尾蚜 *Diuraphis noxia* 注释匹配率分别有 7.12% 和 5.43%,其他物种比对到的则较少。此外,有 6 266 (8.97%)条在 GO 数据库中获得注释,5 093 (7.29%)条 unigene 在 KEGG 数据库中获得注释,15 558 (22.27%)条 unigene 在 eggNOG 数据库中得到注释,14 569 (20.85%)条 unigene 在 SwissProt 数据库中被注释。

2.2 白蜡虫转录组基因家族进化分析

将白蜡虫转录组基因与 14 个物种的 CDS 构建进化树进行进化分析,发现白蜡虫与豌豆蚜和麦双尾蚜聚为一支,约在 100 万年前与豌豆蚜和麦双尾蚜分化(图 2)。

基因家族扩张和收缩分析发现,白蜡虫中有 4 480 个基因家族发生了收缩,1 347 个基因家族发生了扩张(图 3)。与蚜虫(*A. pisum* 和 *D. noxia*)相比,白蜡虫中有 53 个基因家族发生了明显的扩张,47 个基因家族发生了明显的收缩($P < 0.01$)。对这些基因家族进行 KEGG 富集分析发现,白蜡虫中发生收缩的基因家族有 1 个是与 N-聚糖合成(Various types of N-glycan biosynthesis)通路相关(图 4),该基因家族在白蜡虫中有 1 个基因,在麦双尾蚜中有 2 个基因,在豌豆蚜中有 4 个基因。

2.3 UPLC-Q-TOF MS 分析

白蜡虫吊糖样品组分离子峰通过 XCMS 软件进行提取,在正离子质谱采集模式下共获得离子峰 45 927 个,鉴定组分 380 种,在有机氧化

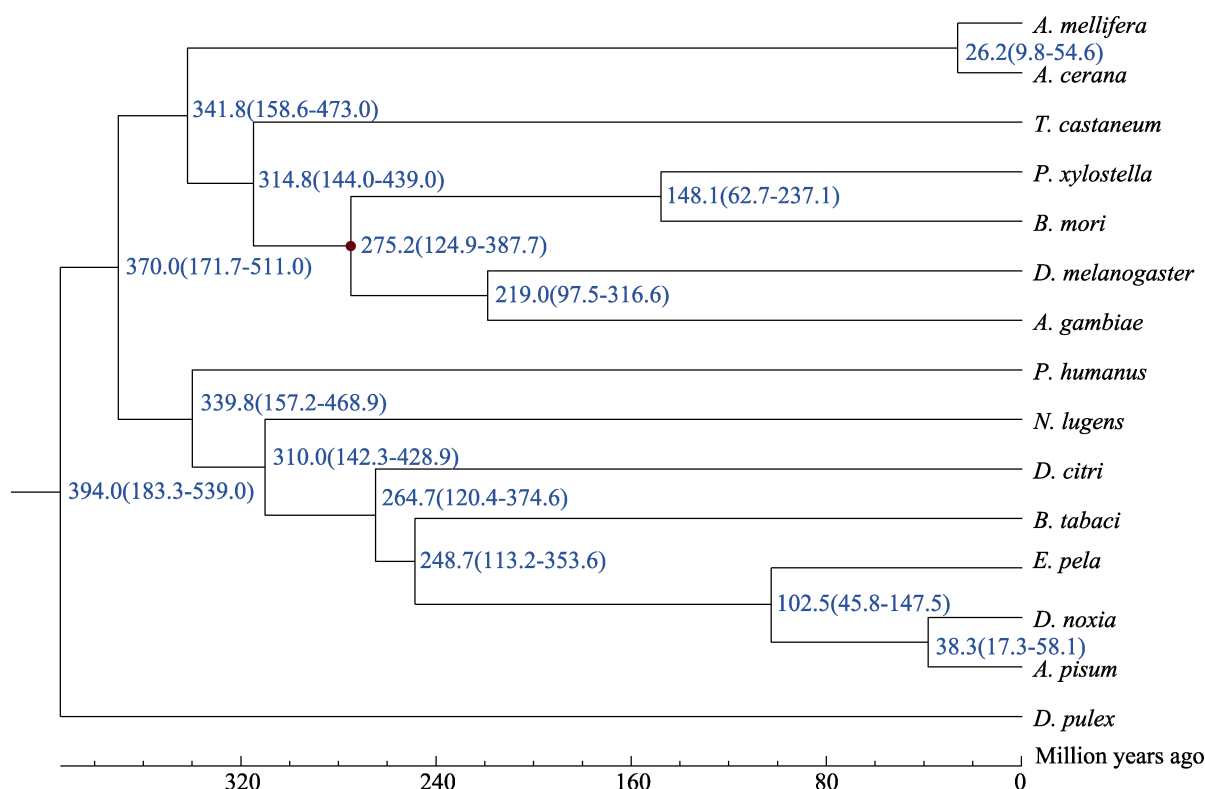


图2 白蜡虫与14个物种进行进化分析和物种分化年限估算

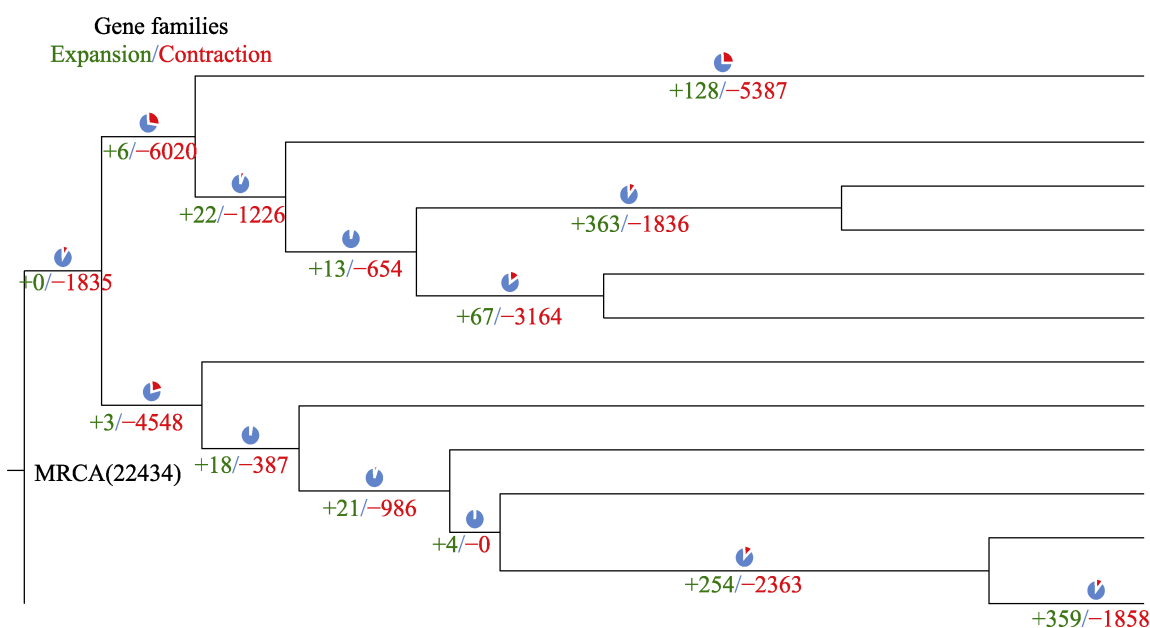
Fig. 2 The evolution analysis and divergence time estimation of *Ericerus pela* and other 14 species

图3 白蜡虫和14个物种基因家族扩张和收缩分析

Fig. 3 Analysis of gene family expansion and contraction of *Ericerus pela* and other 14 species

绿色和红色数字分别表示扩张和收缩的基因家族数量；小饼图中红色为发生收缩的基因家族数量，绿色为发生扩张的基因家族数量，蓝色代表未发生变化的基因家族数量。

The green and red numbers indicate the number of expanded gene family and contracted gene family respectively; The red part of the pie chart represents the number of contracted gene family, the green part represents that the number of expanded gene family, and the blue part represents the number of gene family that remained unchanged.

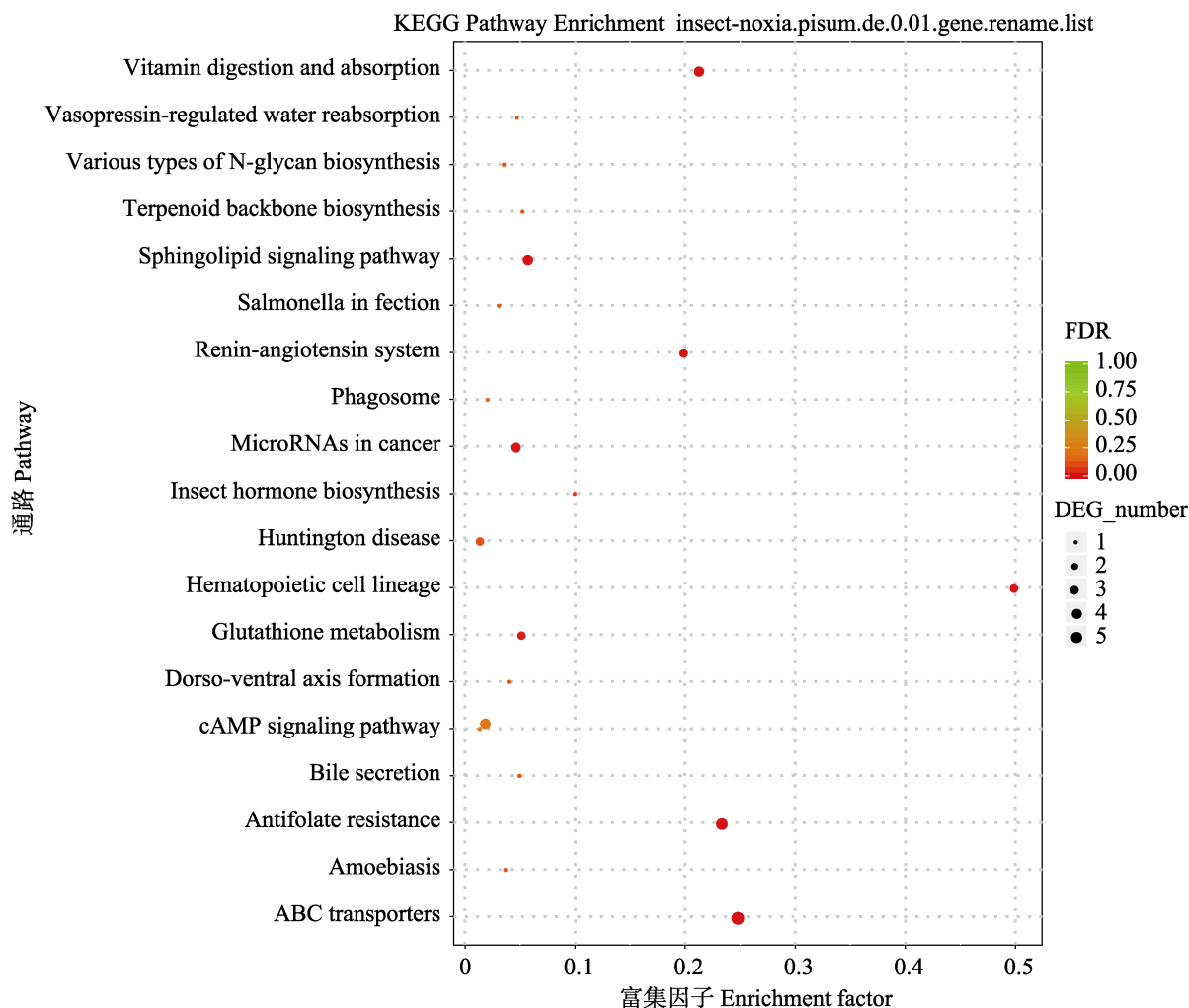


图 4 收缩基因家族 KEGG 富集分析

Fig. 4 KEGG enrichment analysis of the contracted gene families

FDR (False discovery rate) 为错误发现率, 不同颜色代表不同的阈值选择; DEG_number 为富集到该通路的基因数量。

FDR is the false discovery rate, different colors represent different threshold value of selections;

DEG number refers to the number of genes enriched in a pathway.

物 (Organic oxygen compounds) 大分类下代谢物分布与含量最多, 其次为有机杂环化合物 (Organoheterocyclic compounds) 大分类, 具体代谢物含量以有机氧化物大分类下的水苏糖含量最高, 其次为 D-甘露醇以及有机杂环化合物大分类下的 2, 5, 7, 8-四甲基-2-(β -羧乙基)-6-羟基苯 (图 5)。代谢物中还有麦芽糖、蔗糖、棉子糖、麦芽四糖、纤维二糖等糖类, 甾天人菊素 B、半乳糖苷、甜菜碱、白鲜碱、左旋肉碱等, 以及含量更少的多种氨基酸和其他代谢物等。

负离子采集模式下提取得离子峰 43 165 个,

鉴定 187 种组分, 同样在有机氧化物大分类下代谢物分布与含量最多, 脂类和类脂分子 (Lipids and lipid-like molecules) 大分类次之 (图 6), 具体代谢物含量以属于脂类和类脂分子大分类的麦芽糖醇为最高, 其次为有机氧化物分类下半乳糖醇和海藻糖含量居多。含量较多的代谢物还包括玫瑰树碱、肌醇半乳糖苷、L-抗坏血酸异、柠檬酸盐、麦芽糖、核糖醇、泛酸盐等成分, 以及其他各种氨基酸、脂类、苯环类、核酸、有机化合物等含量较少的多种代谢物。

根据正、负离子检测, 总结如下: 吊糖已确定成分高达 400 多种, 其中以有机氧化物、有机

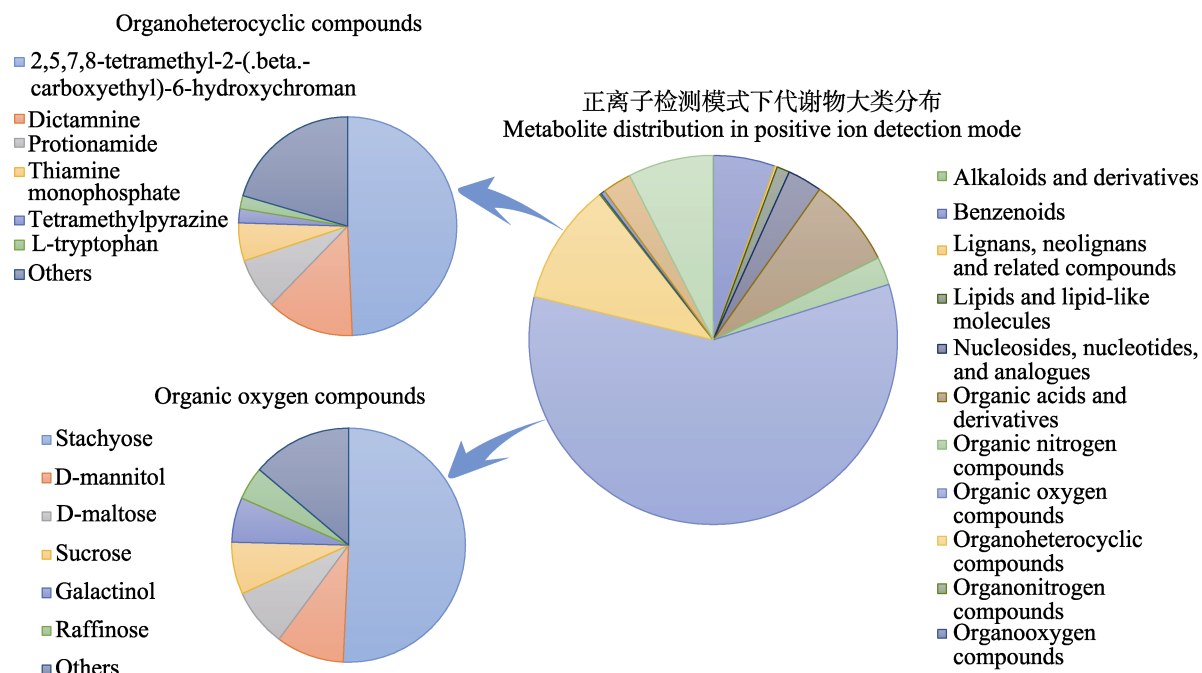


图 5 正离子检测模式下代谢物分布

Fig. 5 The classification of metabolites detected under positive ion detection mode

正离子检测模式下以有机氧化物大分类下的水苏糖含量最高, 其次为 D-甘露醇以及有机杂环化合物大分类下的 2, 5, 7, 8-四甲基-2-(β -羧乙基)-6-羟基苯。

In the positive ion detection mode, the content of stachyose in the large classification of organic oxygen compounds is the highest, followed by D-mannitol and 2, 5, 7, 8-tetramethyl-2-(β -carboxyethyl)-6-hydroxybenzene under the large classification of organoheterocyclic compounds.

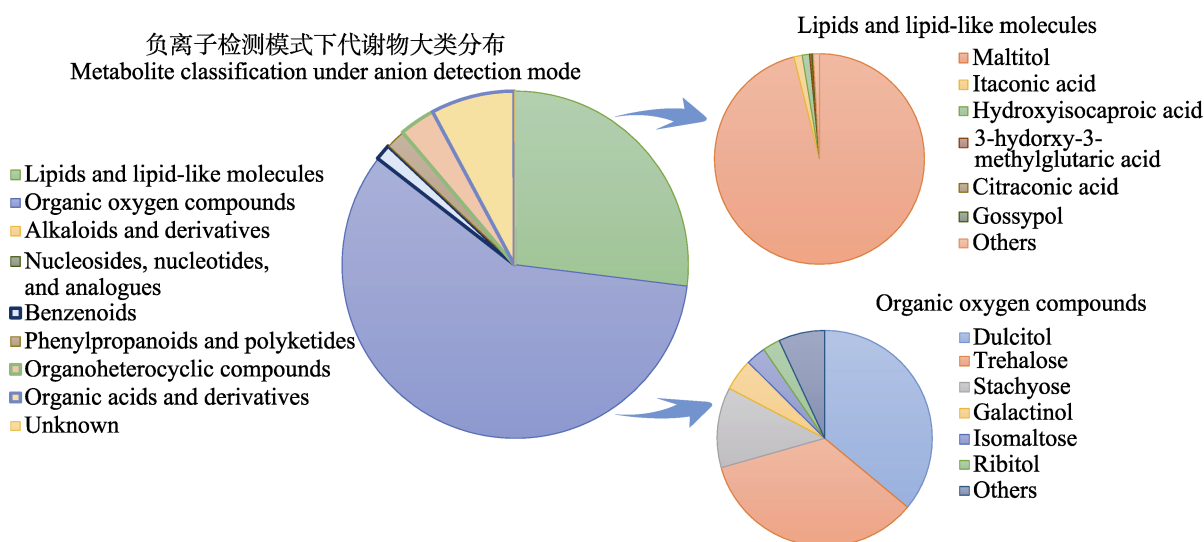


图 6 负离子检测模式下代谢物分类

Fig. 6 The classification of metabolites detected under anion detection mode

负离子检测模式下以属于脂类和类脂分子大分类的麦芽糖醇最多, 其次为有机氧化物分类下半乳糖醇和海藻糖含量居多。

Under the mode of anion detection, maltitol that belongs to the macroclassification of lipids and lipid-like molecules is the most abundant, followed by dulcitol and trehalose under the classification of organic oxygen compounds.

杂环化合物、脂类和类脂分子大类居多，具体代谢物以麦芽糖醇、甘露糖醇、水苏糖和海藻糖等成分含量居多，另含有多种少量的其他糖类、氨基酸、脂类、有机化合物、维生素、生物素等代谢或次生代谢成分。

2.4 转录组与代谢组关联分析

NR 数据库 KEGG 注释结果与代谢产物共同分析，如图 7 所示，各种代谢途径 (Metabolic pathways) 占比例最大，其次为核糖体 (Ribosome)、碳代谢 (Carbon metabolism)、氨基酸合成 (Biosynthesis of amino acids) 以及嘧啶代谢 (Pyrimidine metabolism)。

Swissprot 数据库 KEGG 注释结果与代谢产物共同分析结果如图 8 所示，也是各种代谢途径

(Metabolic pathways) 占比例最大，其次为碳代谢 (Carbon metabolism)、氨基酸合成 (Biosynthesis of amino acids)，与多糖降解 (Other glycan degradation) 有关的有非常少量被注释到。

2.5 关联基因进化分析和对应代谢物分析

将转录组和代谢组关联的基因与扩张和收缩的基因家族基因进行比较，发现一个关联的基因 Q96JB1 所在的基因家族发生了收缩，该基因家族在白蜡虫中只有 4 个基因，而在豌豆蚜和麦双尾蚜中分别有 27 和 16 个基因。以代谢组与转录组匹配到 KEGG 数据库，通过 Fisher's exact test 获得显著特征匹配的代谢组与转录组，发现该基因特征匹配的代谢物分别为柠檬酸盐、乳清酸盐以及 L-谷氨酸。

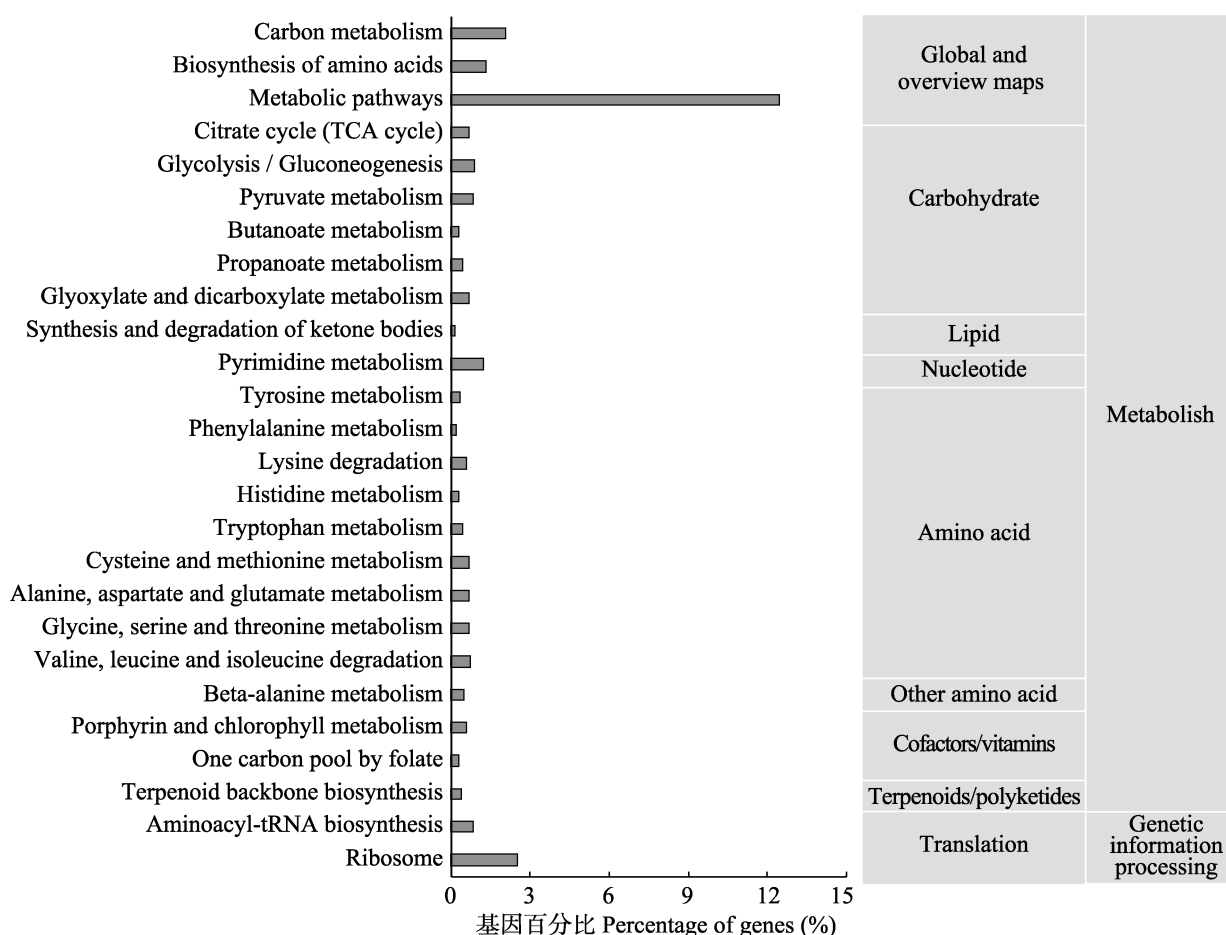


图 7 NR 数据库 KEGG 注释结果与代谢产物共同分析

Fig. 7 Result of KEGG annotation in NR database were analyzed together with metabolites

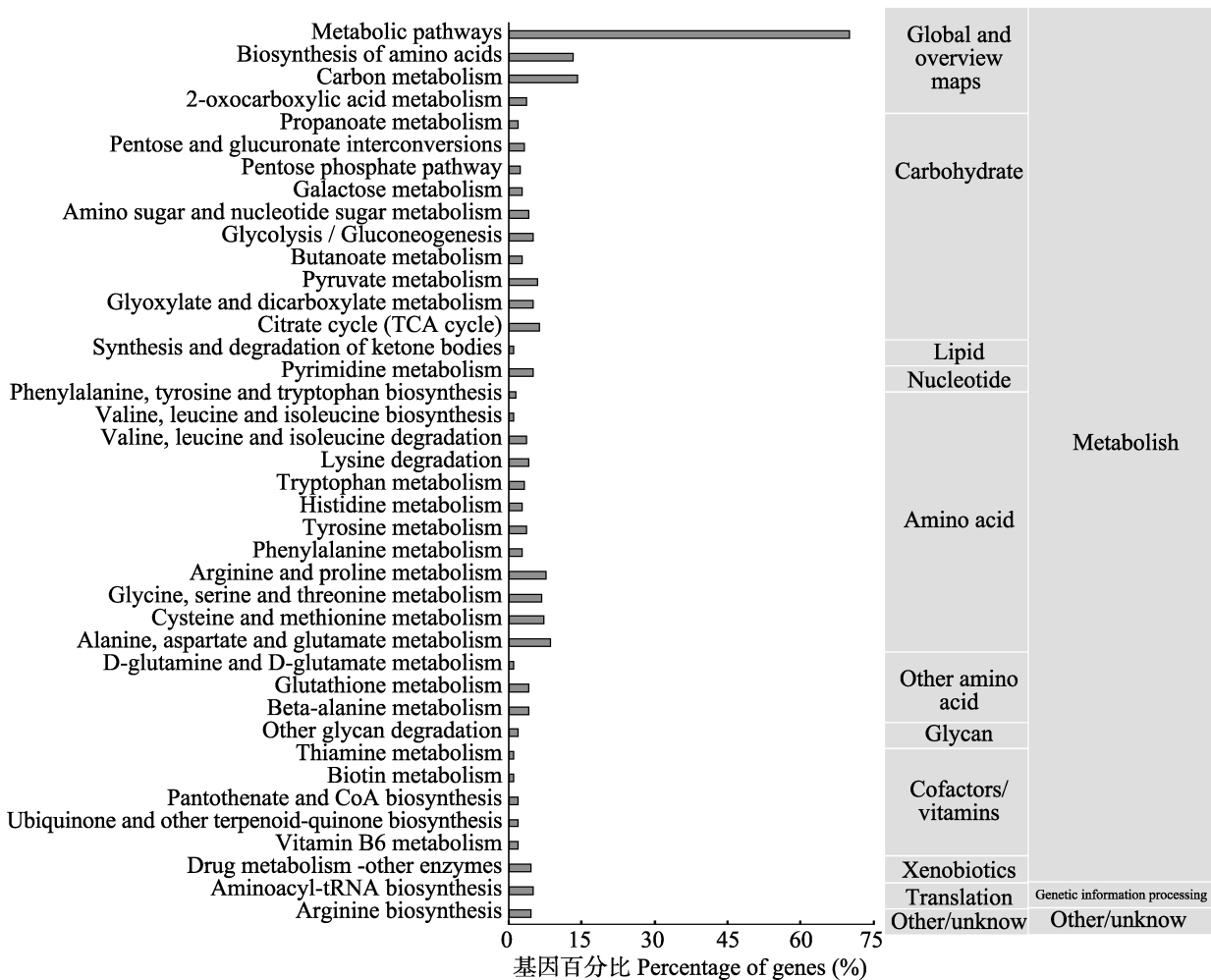


图 8 Swissprot 数据库 KEGG 注释结果与代谢产物共同分析

Fig. 8 Results of KEGG annotation in Swissprot database were analyzed together with metabolites

3 讨论

Holldobler 和 Wilson (1994) 认为蜜露中有 90%-95% 的干重成分是具有甜味的糖 , 包括葡萄糖、海藻糖、果糖、蔗糖和较多低聚糖等种类的糖 , 还包括少量多种氨基酸、脂肪、维生素和矿物质等。蜜露中还含有昆虫代谢产生的新成分 , 植物汁液在经过昆虫口器、消化器官等部位时其营养成分一部分被吸收 , 一部分转变为新的成分 , 这些成分可能也具有重要的作用(Holldobler and Wilson , 1994 ; Fischer and Shingleton , 2001 ; Fischer *et al.* , 2002 ; Nico *et al.* , 2004)。本研究针对白蜡虫吊糖代谢组分析发现 , 白蜡虫吊糖中以麦芽糖醇含量最高、半乳糖醇次之 , 之后为海藻糖和水苏糖等糖类 , 还有多种量少的氨基酸、

维生素等各种代谢物和次生代谢物。

白蜡虫吊糖中富含的麦芽糖醇、半乳糖醇、海藻糖、水苏糖、麦芽糖、蔗糖、棉子糖、半乳糖、甘露糖等 , 对植食者及其天敌有重要的影响。Hu 等 (2010) 采用体外生物测定法分析 16 种糖对甘薯烟粉虱的影响 , 其中 , 甘露糖、核糖、木糖以及阿拉伯糖对烟粉虱若虫和成虫生长发育和存活率抑制明显 , 且麦芽糖、甘露糖、甘露醇、阿拉伯糖、半乳糖、肌醇、乳糖、蜜二糖、核糖、海藻糖等显著降低了烟粉虱成虫的平均日存活率。白蜡虫吊糖可以被白蜡虫的天敌昆虫如中华花翅跳小蜂 *Microterys sinicus* Jiang、白蜡虫阔柄跳小蜂 *Metaphycus ericeri* Xu *et* Jiang 等取食提供营养 , 而且吊糖挥发性物质引诱天敌有利于天敌寄生在白蜡虫内 (焦懿和赵苹 , 1999 , 2002) ,

因此推测白蜡虫吊糖里这些成分对于降低寄生蜂的危害可能具有一定作用。

白蜡虫吊糖中有含量较高的麦芽糖与水苏糖,它们都属于低聚糖类,这类糖含热量较低,不为大多数生物选择利用(梁丽心,2004;殷冬梅和胡贵成,2007);白蜡虫吊糖中检测到半乳糖醇,研究认为半乳糖醇不易通过生物膜,容易造成膜内积液(Kinoshita *et al.*, 1962);吊糖中含有较多的海藻糖,虽然有研究认为海藻糖对其他生物具有维护细胞膜与蛋白结构的作用,但海藻糖会显著降低昆虫存活率(Benaroudj *et al.*, 2001; Hu *et al.*, 2010)。有研究表明,某些种类的蚂蚁对麦芽糖醇等类物质是不偏好食用的(Frédérique *et al.*, 2002)。由上看出,白蜡虫吊糖的主要成分对蚂蚁等一些昆虫是没有吸引力的,这可能是白蜡虫没有与其他昆虫形成共生关系的原因。

王自力等(2005)对寄生白蜡虫的女贞树 *Ligustrum lucidum* 枝条氨基酸含量和微量元素进行检测,与对照枝条相比,有15种氨基酸明显降低,另有3种氨基酸谷氨酸、组氨酸以及色氨酸高于对照。而对白蜡虫吊糖代谢组分析中,除色氨酸含量较高外单独存在外,其他多以氨基酸盐或以肽键结合在一起的两不同氨基酸的形式存在,说明白蜡虫此阶段确有将有利于生长发育的氨基酸吸收并将其代谢合成新成分排出。

转录组与代谢组关联的基因中有一条基因 Q96JB1,该基因家族在白蜡虫中发生了收缩。该基因与吊糖中代谢物乳酸盐、L-谷氨酸关联和柠檬酸盐相关联。有研究认为乳酸盐以乳酸盐磷酸核糖转移酶的形式参与尿嘧啶的合成,与尿嘧啶突变有关以及角质层几丁质的合成有关(Torben, 1987; Zider *et al.*, 1996); L-谷氨酸是一种主要的神经递质在昆虫肌肉运动中起作用(Dunbar and Piek, 1983; Sattelle, 1992)。这两种物质与白蜡虫固定的寄生方式有关,这也说明白蜡虫对于这些物质需求不大,相关基因发生了收缩。

有研究表明,蜜露在介壳虫与蚂蚁之间复杂关系的进化中担任重要角色,如臭蚁畜牧蚁与可

以分泌蜜露的粉蚧成绝对共生关系,畜牧蚁只以粉蚧蜜露为食,并为粉蚧提供安全的生长环境,而粉蚧对其他种类蚂蚁而言是可以捕获的猎物(Holldobler and Wilson, 1994)。目前并没有发现白蜡虫和蚂蚁等其他生物形成共生关系,白蜡虫的种群扩散主要是在产卵期幼虫随着寄主植物进行扩散,在这个阶段吊糖已经干涸,该过程没有其它昆虫的参与。吊糖的产生主要在育卵期,吊糖对于白蜡虫可能有很多的不利影响。在白蜡虫种虫产区如云南昭通,在采取种虫时白蜡虫背部无粘稠吊糖,可能是因为白蜡虫雌成虫定杆时多分布在通风向阳的中部枝条上,且自然雨水冲刷,从而使虫体保持干净。

白蜡虫吊糖的产生与最后消失的过程伴随着虫体的发育,可能与白蜡虫代谢生理活动有密切相关。有人认为“吊糖是受孕的雌成虫在产卵期的一种生理反应”(张长海和刘化琴,1997),但是我们在白蜡虫吊糖中还没有鉴定出与促进产卵有关的物质。我们认为,白蜡虫分泌的吊糖,可能是由于雌成虫在育卵期大量取食植物汁液,将无法代谢的部分以吊糖的形式排除,吊糖应该是白蜡虫应对寄主植物次生代谢物质消化或保护机制的产物(钦俊德和王琛柱,2001),对维持体内代谢平衡有着重要的作用。由于目前代谢组数据库的原因,在吊糖代谢组成分检测中尚有大量色谱峰没有确定具体成分,吊糖的进化意义仍有待更深入的研究。

参考文献 (References)

- Baker D, 2000. Vascular transport of auxins and cytokinins in Ricinus. *Plant Growth Regulation*, 32(2/3): 157–160.
- Beggs JR, Karl BJ, Wardle DA, Bonner KI, 2005. Soluble carbon production by honeydew scale insects in a New Zealand beech forest. *New Zealand Journal of Ecology*, 29(1): 105–115.
- Benaroudj N, Lee DH, Goldberg AL, 2001. Trehalose accumulation during cellular stress protects cells and cellular proteins from damage by oxygen radicals. *Journal of Biological Chemistry*, 276(26): 24261–24267.
- Bouchard Y, Cloutier C, 1984. Honeydew as a source of host-searching kairomones for the aphid parasitoid *Aphidius nigripes*

- (Hymenoptera: Aphididae). *Canadian Journal of Zoology*, 62(8): 1513–1520.
- Dungan RJ, Kelly D, Turnbull M, 2007. Separating host-tree and environmental determinants of honeydew production by ultracoelostoma scale insects in a nothofagus forest. *Ecological Entomology*, 32(4): 338–348.
- Dunbar SJ, Piek T, 1983. The action of iontophoretically applied L-glutamate on an insect visceral muscle. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 1(1): 93–103.
- Fischer MK, Shingleton AW, 2001. Host plant and ants influence the honeydew sugar composition of aphids. *Functional Ecology*, 15(4): 544–550.
- Fischer MK, Wolfgang V, Reinhard S, Hoffmann KH, 2002. Age-specific patterns in honeydew production and honeydew composition in the aphid *Metopeurum fuscoviride*: Implications for ant-attendance. *Journal of Insect Physiology*, 48(3): 319–326.
- Frédérique P, Gloaguen V, Petit D, 2002. Mechanistic aspects to feeding preferences in *Chorthippus binotatus* (Acrididae, Gomphocerinae). *Journal of Insect Behavior*, 15(4): 513–526.
- Garcia-Alcalde F, Garcia-Lopez F, Dopazo J, Conesa A, 2011. Paintomics: A web based tool for the joint visualization of transcriptomics and metabolomics data. *Bioinformatics*, 27(1): 137–139.
- Gullan PJ, Kosztarab M, 1997. Adaptations in scale insects. *Annual Review of Entomology*, 42(1): 23–50.
- Grabherr MG, Haas BJ, Yassour M, Levin JZ, Thompson DA, Amit I, Adiconis X, Fan L, Raychowdhury R, Zeng Q, Chen Z, Mauceli, Hacohen N, Gnirke A, Rhind N, Palma FD, Birren BW, Nusbaum C, Lindblad-Toh K, Friedman N, Regev A, 2011. Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome. *Nature Biotechnology*, 29(7): 644–652.
- Holldobler B, Wilson EO, 1994. Journey to the Ants. Xia HB (translate). Haikou: Hainan Publishing House. 153–165. [Holldobler B, Wilson EO, 1994. 蚂蚁的故事. 夏侯炳(译). 海口: 海南出版社. 153–165.]
- Hu JS, Gelman DB, Salvucci ME, Chen YP, Blackburn MB, 2010. Insecticidal activity of some reducing sugars against the sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci*, biotype B. *Journal of Insect Science*, 10(203): 1–22.
- Jiao Y, Zhao P, 2002. Bionomics and population dynamics of *Microterys sinicus* Jiang (Hymenoptera: Encyrtidae). *Acta Entomologica Sinica*, 45(4): 482–486. [焦懿, 赵苹, 2002. 中华花翅跳小蜂生物学特性和种群动态的研究. 昆虫学报, 45(4): 482–486.]
- Jiao Y, Zhao P, 1999. Bionomics of *Metaphycus ericeri* Xu et Jiang. *Acta Entomologica Sinica*, 42(2): 166–171. [焦懿, 赵苹, 1999. 白蜡虫阔柄跳小蜂生物学特性的研究. 昆虫学报, 42(2): 166–171.]
- Kinoshita JH, Merola LO, Satoh K, Dikmak E, 1962. Osmotic changes caused by the accumulation of dulcitol in the lenses of rats fed with galactose. *Nature*, 194(4833): 1085–1087.
- Liang LX, 2004. Functional oligosaccharide-stachyose. *China Food Additives*. (4): 51–54. [梁丽心, 2004. 功能性低聚糖——水苏糖. 中国食品添加剂, (4): 51–54.]
- Liu Y, Sun YC, Wang GH, 2011. The induced defense and anti-defense between host plant and phloem sucker insect. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 48(4): 1052–1059. [刘勇, 孙玉诚, 王国红, 2011. 植物和刺吸式口器昆虫的诱导防御与反防御研究进展. 应用昆虫学报, 48(4): 1052–1059.]
- Lu YH, Shi XL, Zhong CX, Wang H, Chen J, Yu YS, Yang YZ, 2005. Impacts of honeydew on the growth, fecundity and foraging behavior of natural enemies. *Chinese Bulletin of Entomology*, 42(4): 379–385. [陆宴辉, 史晓利, 仲崇翔, 王红, 陈建, 余月书, 杨益众, 2005. 蜜露对天敌昆虫生长繁殖及搜寻行为的影响. 昆虫知识, 42(4): 379–385.]
- Moya-Raygoza G, Martinez AV, 2014. Ants (Hymenoptera: Formicidae) and trophobiont leafhopper nymphs (Hemiptera: Cicadellidae) become more abundant in shaded conditions: Implications for mutualism. *Florida Entomologist*, 97(4): 1378–1385.
- Nico B, Gottsberger G, Fiedler K, 2004. Sugar and amino acid composition of ant-attended nectar and honeydew sources from an Australian Rainforest. *Austral Ecology*, 29(4): 418–429.
- Qin JD, Wang CZ, 2001. The relation of interaction between insects and plants to evolution. *Acta Entomologica Sinica*, 44(3): 360–365. [钦俊德, 王琛柱, 2001. 论昆虫与植物的相互作用和进化的关系. 昆虫学报, 44(3): 360–365.]
- Sattelle DB, 1992. Receptors for L-glutamate and GABA in the nervous system of an insect (*Periplaneta americana*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, 103(3): 429–438.
- Sun T, Wang XQ, Zhao ZL, Yu SH, Yang P, Chen XM, 2018. A lethal fungus infects the Chinese white wax scale insect and causes dramatic changes in the host microbiota. *Scientific*

- Reports*, 8(1): 5324.
- Torben K, 1987. The physiological effects of dumpy mutations on de-novo pyrimidine synthesis in *Drosophila melanogaster*. *Hereditas*, 107(2): 213–217.
- Wardle DA, Karl BJ, Beggs JR, Yeates GW, Williamson WM, Bonner KI, 2010. Determining the impact of scale insect honeydew, and invasive wasps and rodents, on the decomposer subsystem in a New Zealand beech forest. *Biological Invasions*, 12(8): 2619–2638.
- Wäckers FL, Rijn PCJV, Heimpel GE, 2008. Honeydew as a food source for natural enemies: Making the best of a bad meal. *Biological Control*, 45(2): 176–184.
- Wettersten HI, Hakimi AA, Morin D, Bianchi C, Johnstone ME, Donohoe DR, Trott JF, Aboud OA, Stirdivant S, Neri B, Wolfert R, Stewart B, Perego R, Hsieh JJ, Weiss RH, 2015. Grade-dependent metabolic reprogramming in kidney cancer revealed by combined proteomics and metabolomics analysis. *Cancer Research*, 75(12): 2541–2552.
- Wang ZL, Wang SY, Ye SD, Chen Y, Feng Y, Chen XM, 2005. A study on the relation between the nutritional needs of *Ericerus pela* (Chavannes) and nutritional component of host plants. *Forest Research*, 18(4): 421–424. [王自力, 王绍云, 叶寿德, 陈勇, 冯颖, 陈晓鸣, 2005. 白蜡虫营养需求与寄主植物的营养关系. 林业科学研究, 18(4): 421–424.]
- Xue JL, Peng GL, Xie YP, Zhang YF, Han ZZ, 2010. Effect of honeydew excreted by *rhodococcus sariuoni* on infection ability of *Verticillium lecanii*. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 16(4): 504–508. [薛皎亮, 彭国良, 谢映平, 张艳峰, 韩珍珍, 2010. 沙里院褐球蚧蜜露对病原真菌蜡蚧轮枝菌感染力的影响. 应用与环境生物学报, 16(4): 504–508.]
- Xie YP, Xue JL, Zhang ZJ, Liu WM, Yang Q, Fan JH, 2012. Entomopathogenic fungal parasites of scale insects and their potential in biological control. *Mycosystema*, 31(3): 307–321.
- Yin DM, Hu GC, 2007. Characteristics and application of maltitol. *Hebei Chemical Engineering and Industry*, 30(5): 34–35. [殷冬梅, 胡贵成, 2007. 麦芽糖醇的特性及应用. 煤炭与化工, 30(5): 34–35.]
- Zider A, Flagiello D, Frouin I, Silber J, 1996. Vestigial gene expression in *Drosophila melanogaster* is modulated by the dTMP pool. *Molecular & General Genetics: MGG*, 251(1): 91–98.
- Zhang CH, Liu HQ, 1997. Production Technology of Chinese *Ericerus pela* (Chavannes) and Wax. Beijing: China Forestry Press. 1–30. [张长海, 刘化琴, 1997. 中国白蜡虫及白蜡生产技术. 北京: 中国林业出版社. 1–30.]