

DOI:10.13275/j.cnki.lykxyj.2021.01.006

绒毛白蜡 (*Fraxinus velutina* Torr) 韧皮部响应白蜡窄吉丁 (*Agrilus planipennis* Fairmaire) 危害的转录组变化

封润霞¹, 赵 婕¹, 张苏芳², 王建军³, 魏建荣¹, 刘建凤^{1*}

(1. 河北大学生命科学学院, 河北 保定 071000; 2. 中国林业科学研究院森林生态环境与保护研究所, 北京 100091; 3. 辽宁省林业科学研究所, 辽宁沈阳 110032)

摘要: [目的] 为深入研究绒毛白蜡树响应白蜡窄吉丁危害的分子机制。[方法] 以健康与受害的绒毛白蜡树干韧皮部为试验材料, 利用 RNA-Seq 测序技术对绒毛白蜡树韧皮部的转录组表达变化进行分析。[结果] 通过对比健康与受害韧皮部的转录组数据, 共鉴定出 3388 个 DEGs, 其中受害韧皮部相对于健康白蜡树韧皮部上调的 DEGs 有 2141 个, 表达下调的 DEGs 为 1247 个; 通过 GO 功能注释, 将差异基因划分为 20 个功能类别, 包括细胞过程、代谢过程、催化活性、结合元件、转运活性以及核酸结合转录因子活性等; 对差异表达基因分别进行 KEGG 代谢途径及功能富集分析, 其中代谢途径共 20 个, 包括碳水化合物代谢, 氨基酸代谢, 能量代谢和脂质代谢等, 另外差异表达基因分别在 122 条通路中均有富集, 包括植物-病原体互作、代谢进程、碳水化合物结合、核酸结合转录因子活性等; 通过转录组家族统计, 发现健康与受害白蜡树韧皮部共有 20 个转录因子家族, 其中 C3H、BHLH、NAC、MYB、B3、GRAS 和 SBP 等转录因子家族基因表达量均达到显著差异。[结论] 研究结果为揭示白蜡树应对虫害胁迫反应的分子机制提供分子与理论依据。

关键词: 白蜡树; 白蜡窄吉丁; 韧皮部; 转录组

中图分类号: S763.38

文献标志码: A

文章编号: 1001-1498(2021)01-0047-09

绒毛白蜡为木犀科 (Oleaceae) 落叶乔木, 原产于北美, 现在我国华北、内蒙古和长江中下游地区均有栽培, 是重要的木材和观赏物种。白蜡窄吉丁 (*Agrilus planipennis* Fairmaire) 属鞘翅目吉丁总科吉丁科 (Coleoptera: Buprestidae), 是木犀科栲属 (*Fraxinus*) 树木的一种重要蛀干害虫^[1], 其幼虫在树木的韧皮部、形成层和木质部浅层蛀食为害, 严重危害我国北方地区引种栽植的各个白蜡树种, 如洋白蜡 (*Fraxinus pennsylvanica* Marsh.) 和绒毛白蜡 (*Fraxinus velutina* Torr)^[2]。白蜡窄吉丁幼虫的危害极具隐蔽性, 其在树皮内蛀食为害时不将碎木和虫粪推出坑道, 从树皮外很难发现树木受

害。成虫的飞翔能力较弱, 新羽化的成虫常常在同一棵树上或附近树上继续产卵为害^[3]。因此, 成虫一旦侵染树干成功, 危害会逐年加重, 通常 1~3 年即可导致树木死亡^[4]。由于白蜡窄吉丁幼虫生活的隐蔽性, 常规的防治方法很难奏效, 所以目前对于白蜡窄吉丁的防治主要集中在成虫期, 一般采用诱捕器、粘虫板、阻虫网以及药剂喷雾等。目前国内针对白蜡吉丁幼虫天敌的研究较多, 主要是为利用天敌昆虫的生物防治服务^[5-6]。

植物在长期进化过程中, 形成了通过物理结构和有毒次生代谢产物抵御植食性昆虫危害的机制^[7]。次级代谢产物的应答策略可以通过分子水平上的变化

收稿日期: 2020-03-06 修回日期: 2020-05-12

基金项目: 国家重点研发计划资助 (2018YFC1200400)

* 通讯作者: 刘建凤, 博士, 副教授, 主要研究方向: 植物分子抗逆研究。电话: 18903120592 Email: jianfengliu@hbu.edu.cn

来解析其产生的分子机制。目前,国内外对于白蜡树抗白蜡窄吉丁的相关研究相对较少,尤其是针对白蜡树响应害虫侵害时的韧皮部组织中转录组水平变化的研究更是鲜见报道。鉴于此,作者对绒毛白蜡与白蜡窄吉丁幼虫互作过程中韧皮部的分子表达谱进行了研究。通过对健康与受害白蜡树的韧皮部材料进行转录组水平测序、组装和注释,获得了寄主树与幼虫互作过程中被激活的各类转录因子家族,并分别对差异表达基因进行 GO (Gene Ontology)、KEGG(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) 注释和富集分析。研究结果将为绒毛白蜡树抗虫分子机制研究奠定理论基础,同时也为丰富木犀科植物抗虫相关基因库,促进白蜡抗逆分子育种和优良品系培育提供重要科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2019年9月中旬在辽宁省凌海市(40°48′~441°26′N, 120°42′~121°45′E)白蜡树种植园内,选取长势一致树龄10年,直径6~8cm的健康(Non-infested)与受害绒毛白蜡树(Infested, ASF)为实验材料。选区部位:截取距离树干基部1.5~2.0m处的韧皮部,此区域约有白蜡窄吉丁幼虫30头,在此部位周径上分别采集3块10cm×5cm(长×宽)的韧皮部材料,并混合为一个重复,直接放入液氮中保存备用。该试验设置3个重复。

1.2 RNA 抽提

采用 TRIzol (Invitrogen) 法提取组织中的总 RNA, 并使用 DNase I (TaKara) 去除基因组 DNA。分别采用 2100 Bioanalyser (Agilent)、ND-2000 (Nano-Drop Technologies) 方法检测 RNA 样品的质量, 以保证使用合格的样品 ($OD_{260/280} = 1.8 \sim 2.2$, $OD_{260/230} \geq 2.0$, $RIN \geq 6.5$, $28S:18S \geq 1.0$, $> 2 \mu g$) 进行转录组测序。

1.3 文库构建及 RNA-Seq 测序

RNA 文库的建立采用 TruSeq™ RNA sample preparation Kit (Illumina, San Diego, CA) 试剂盒。首先利用带有 Oligo(dT) 的磁珠从 5 μg 总 RNA 中富集有 poly-A 尾的 mRNA。再加入 fragmentation buffer, 将 mRNA 随机断裂成 200 bp 左右的小片段。接着采用 SuperScript double-stranded cDNA synthesis kit (Invitrogen, CA) 试剂盒、加入六碱基随机引物 (Illumina), 以 mRNA 为模板反转合成一链 cDNA,

随后进行二链合成, 形成稳定的双链结构。双链的 cDNA 结构为粘性末端, 加入 End Repair Mix 将其补成平末端, 随后在 3′末端加上一个 A 碱基, 用于连接 Y 字形的接头, 具体步骤参见说明书。cDNA 经过 PCR 富集后, 利用 2% 琼脂糖胶回收 200~300 bp 的条带。经 TBS380 (Picogreen) 定量后, 文库使用 Illumina HiSeq Xten/NovaSeq 6000 测序平台进行高通量测序, 测序读长为 PE 150。

1.4 数据的处理与筛选

序列数据 (raw data 或 raw reads) 由 Illumina HiSeq Xten/NovaSeq 6000 测序得到的原始图像数据经 base calling 转化形成 FASTQ 格式的文件, 该序列数据包含 reads 的序列以及碱基的测序质量, 经过去除和过滤含 adapter、N 过多或低质量碱基的 dirty raw reads 后获得高质量的 clean reads, 用于后续的信息分析。用 FPKM (Fragments Per Kilobase of transcript per Million mapped reads) 值衡量计算表达量。根据 $FDR < 0.05$ 且 $|\log_2 FC| > 1$ 筛选出差异表达基因 (differentially expressed genes, DEGs)。

2 结果与分析

2.1 幼虫受害后白蜡韧皮部转录组数据质量分析

分别取健康 (Non-infested 1-3) 和受害 (ASF 1-3) 的白蜡树韧皮部, 对样品文库进行了 RNA-Seq 测序, 分别获得 Raw Reads 49287036、44918932、50780898、49722100、45082112 和 45802214 条, 去除有接头 (Adapter related)、N 含量超过 10% (Containing N) 以及低质量 (Low quality) 的 reads, 最终得到 (Clean reads) 分别为 48778052、44592026、50393962、49349330、44708080 和 45432400 条; 去除 Phred 值小于 20 的碱基片段, 样本高于 Q20 测序结果比例分别为 98.11%、98.34%、98.3%、98.29%、98.3% 和 98.25%; 碱基 G 和 C 的数量总和占总的碱基数量的百分比分别为 44.75%、43.58%、43.3%、43.57%、43.4% 和 43.37% (表 1)。结果表明测序质量合格, 可进行下一步的生物学分析。

2.2 健康与受害的韧皮部差异表达基因 DEGs 的筛选

对健康与受害白蜡树韧皮部进行样品间相关性分析及基因表达差异分析, 结果显示, 健康与受害白蜡树韧皮部之间相关性较低, 均分布在 0.7~0.8 之间, 而各自生物学重复间的相关性相对较高, 均高于 0.9, 说明我们前期分别采集健康与受害白蜡树韧皮部并

设置 3 组重复的实验设计较为合理 (图 1A)。进一步对健康与受害白蜡树韧皮部的表达差异基因通过火山图进行分析, 显著上调的基因以红色表示, 显著下调的基因以绿色表示, 无显著性差异的基因以灰色表示 (图 1B)。共得到了 3388 个差异表达基

因 (DEGs), 其中受害相对于健康白蜡树韧皮部表达下调的 DEGs 有 1247 个, 表达上调的 DEGs 有 2141 个, 上调的基因数明显高于下调基因数。结果表明, 虫害胁迫下白蜡树韧皮部的大部分基因受到激活, 少数基因受到抑制。

表 1 转录组优化组装结果评估

Table 1 Evaluation of transcriptome optimized assembly results

样品名称 Sample	原始序列数据 Raw reads	过滤后测序数据 Clean reads	碱基错误率 Error rate/%	Phred >20的百分比/%	GC百分比 GC content/%
ASF-1	49722100	49349330	0.02	98.29	43.57
ASF-2	45082112	44708080	0.02	98.3	43.4
ASF-3	45802214	45432400	0.02	98.25	43.37
Non-infested1	49287036	48778052	0.02	98.11	44.75
Non-infested2	44918932	44592026	0.02	98.34	43.58
Non-infested3	50780898	50393962	0.02	98.3	43.3

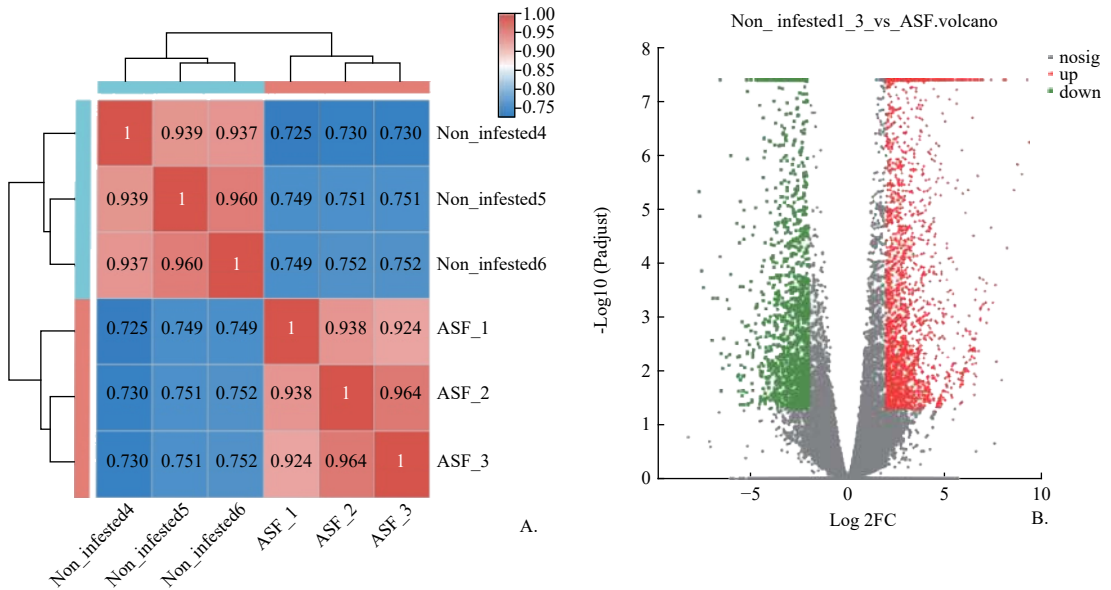


图 1 健康与受害样本间相关性热图 (A) 与差异基因火山图 (B)

Fig. 1 Heat map of correlation between health and hazard samples (A) and differential gene volcano map (B)

2.3 健康与受害的韧皮部差异表达基因 GO 分析

为明确健康与受害绒毛白蜡树韧皮部差异表达基因的生物学功能, 对这些基因进行 GO 功能注释分析, 将差异表达基因分为生物学过程 (biological process)、细胞组成 (cellular component) 和分子功能 (molecular function) 三大类。差异表达基因可主要归纳于 9 个生物学过程、7 个细胞组分以及 4 个分子功能 (图 2)。在生物学过程中以细胞过程 (cellular process) 以及代谢进程 (metabolic process) 差异表

达基因数量居多; 在分子功能中差异表达基因集中于催化活性 (catalytic activity) 和结合元件 (binding) 两个方面, 另外, 转运活性 (transporter activity) 以及核酸结合转录因子活性 (nucleic acid binding transcription factor activity) 也出现了基因差异表达 (表 2)。表明白蜡树韧皮部在白蜡窄吉丁胁迫下主要通过以上途径的差异表达基因来进行相关应答及调控。

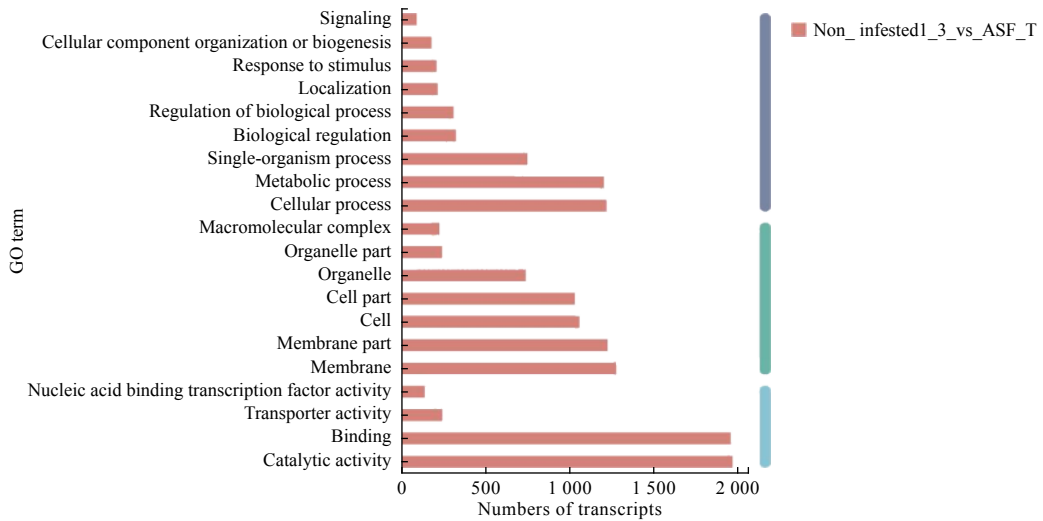


图 2 差异表达基因 GO 富集分析

Fig. 2 Enrichment analysis of differentially expressed Gene Ontology

表 2 差异基因 GO 功能注释分类统计

Table 2 Statistical table of functional annotation classification of differential gene GO

GO 术语 GO Term	差异基因表达数 Seq Number
信号 signaling	97
细胞成分组织或生物合成 Cellular component organization or biogenesis	184
刺激响应 Response to stimulus	214
本地化 Localization	220
生物过程调节 Regulation of biological process	315
生物调节 Biological regulation	328
单个有机体过程 Single-organism process	751
代谢过程 Metabolic process	1202
细胞过程 Cellular process	1217
高分子络合物 Macromolecular complex	231
细胞器部件 Organelle part	245
细胞器 Organelle	741
单元部件 Cell part	1031
细胞 Cell	1058
膜部件 Membrane part	1225
膜 Membrane	1274
核酸结合转录因子活性 Nucleic acid binding transcription factor activity	143
转运活性 Transporter activity	247
结合元件 Binding	1953
催化活性 Catalytic activity	1963

2.4 健康与受害的韧皮部 KEGG 代谢途径分析

为了系统分析健康与受害白蜡树韧皮部差异表达基因的基因功能、联系基因组信息和功能信息，作者将差异表达基因按照参与的 pathway 通路或行使的功能进行分类，共建立了 20 条代谢通路 (pathway)。图 3 表示健康与受害白蜡树韧皮部差异

基因 KEGG 代谢途径，由图可知，这些差异基因参与六大类代谢，分别为代谢 (Metabolism)、遗传信息处理 (Genetic Information Processing)、环境信息处理 (Environmental Information Processing)、细胞过程 (Cellular Processes)、生物体系统 (Organismal Systems) 和人类疾病 (Human Diseases)。这些差异基因主要参与代谢通路较多，其中碳水化合物代谢 (Carbohydrate metabolism) 的差异表达基因最多，达到 6397 个，其次是氨基酸代谢 (Amino acid metabolism)，达到 3632 个，另外这些差异基因参与的其他代谢通路有能量代谢、脂质代谢以及其他次生代谢物的生物合成 (表 3)。结果表明，这些基因在多个方面较多的参与受害白蜡树响应白蜡窄吉丁胁迫的生理过程，而次级代谢产物极有可能在此过程中发挥重要作用。

2.5 健康与受害的韧皮部差异基因 KEGG 功能富集分析

为获取健康与受害白蜡树韧皮部差异表达基因的主要参与代谢通路，作者对集中的差异基因进行 KEGG 功能富集分析，发现健康与受害白蜡树韧皮部差异基因主要在 122 条通路 (pathway) 中显著富集。图 4 表示 q-value 值最小 (0.0~0.2) 的前 20 条 pathway，差异表达基因数量以点的大小来表示，不同的 q-value 范围以点的颜色区分。由图可知，内质网蛋白加工 (Protein processing in endoplasmic reticulum) 的差异表达基因最多，达到 78 个；其次是内吞作用 (Endocytosis)，达到 75 个 (表 4)。另一方面，植物激素信号转导 (Plant hormone signal transduction)、植物-病原互作 (Plant-

pathogen interaction)、MAPK 信号通路-植物 (MAPK signaling pathway-plant)、RNA 运输 (RNA transport)、氨基糖和核苷酸糖代谢 (Amino sugar and nucleotide sugar metabolism)、

淀粉和蔗糖代谢 (Starch and sucrose metabolism)、嘌呤代谢 (Purine metabolism) 的 q-value 值最小, 说明这些通路富集程度最高。结果表明, 虫害胁迫时以上通路中相关基因的差异表达最为活跃。

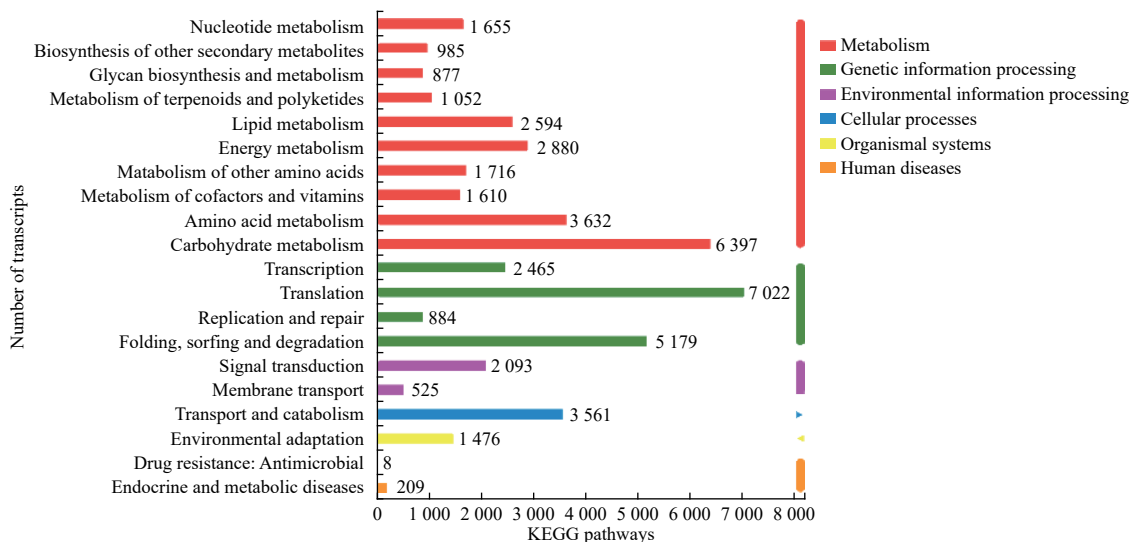


图 3 差异基因 KEGG 代谢途径分类统计柱状图

Fig. 3 Histogram of metabolic pathway classification of differential gene KEGG

表 3 差异基因 KEGG 代谢途径分类统计

Table 3 Classification and statistics of metabolic pathway of differential gene KEGG

KEGG术语 KEGG Term	差异基因表达数 Seq Number
核苷酸代谢 Nucleotide metabolism	1 655
其他次生代谢物的生物合成 Biosynthesis of other secondary metabolites	985
糖的生物合成和代谢 Glycan biosynthesis and metabolism	877
萜类化合物和聚酮类化合物的代谢 Metabolism of terpenoids and polyketides	1 052
脂质代谢 Lipid metabolism	2 594
能量代谢 Energy metabolism	2 880
其他氨基酸的代谢 Metabolite of other amino acids	1 716
代谢的辅助因子和维生素 Metabolite of cofactors and vitamins	1 610
氨基酸代谢 Amino acid metabolism	3 632
碳水化合物代谢 Carbohydrate metabolism	6 397
转录 Transcription	2 465
翻译 translation	7 022
复制和修复 Replication and repair	884
折叠、分类和降解 Folding, sorting and degradation	5 179
信号转导 Signal transduction	2 093
膜运输 Membrane transport	525
运输和分解代谢 Transport and catabolism	3 561
环境适应 Environmental adaptation	1 476
耐药性: 抗菌 Drug resistance: antimicrobial	8
内分泌及代谢性疾病 Endocrine and metabolic diseases	209

2.6 韧皮部响应害虫侵害后转录因子家族分析

通过对健康与受害白蜡树韧皮部进行转录因子家族分析, 共发现了 20 个转录因子家族, 分别为 MYB 超级家族、bZIP、C2H2、C2C2、AP2/ERF、bHLH、C3H、NAC、WRKY、LBD、B3 超级家族、GRAS、HSF、FAR1、MADS、LOB、TCP、SBP、NF-Y 和 CAMTA 转录因子家族 (图 5)。其中, C3H 转录因子家族差异显著基因最多为 73 个, 上调 48 个, 下调 25 个; 其次为 BHLH 转录因子家族, 共 58 个基因差异显著, 上调 40 个, 下调 18 个; 另外, NAC、MYB、B3、GRAS、SBP 等转录因子家族基因表达量达到显著差异 (表 5)。CAMTA 转录因子家族没有差异显著基因, 推测此转录因子家族对白蜡窄吉丁胁迫无明显响应作用。综上所述, 以上 20 个转录因子家族中除 CAMTA 转录因子家族外均可能参与白蜡树响应白蜡窄吉丁胁迫的过程, 其中 C3H、BHLH、NAC、MYB 和 B3 转录因子家族极有可能在白蜡树抵御白蜡窄吉丁受害的过程中发挥重要作用, 该结果为本试验后续研究奠定理论基础。

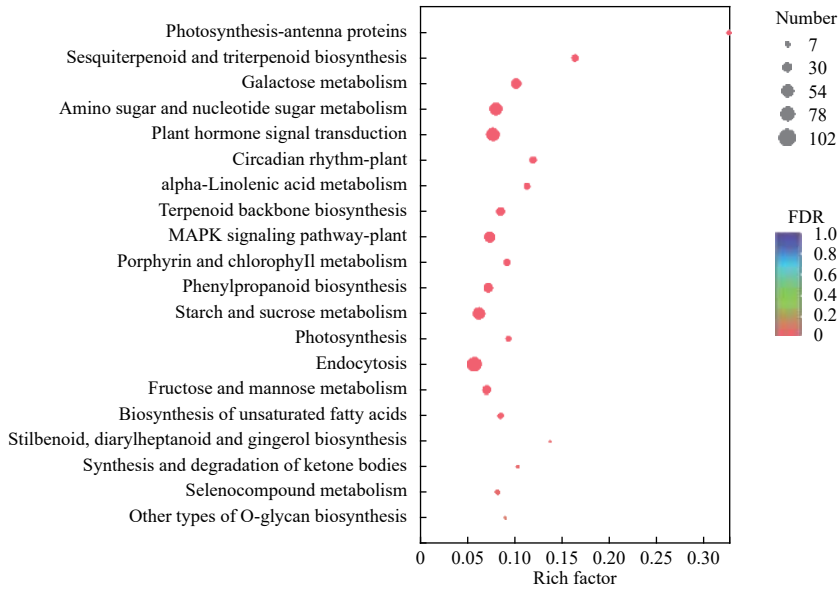


图 4 差异基因 KEGG 富集分析

Fig. 4 Enrichment analysis of differential gene KEGG

表 4 绒毛白蜡受白蜡窄吉丁危害下差异基因富集程度排名前 20 的 pathway 条目

Table 4 The top 20 pathway entries of differential gene enrichment under pest stress of ash tree

KEGG术语 KEGG Term	差异基因表达数 Seq Number	KEGG编号 KEGG ID
内质网蛋白加工 Protein processing in endoplasmic reticulum	78	map04141
内吞作用 Endocytosis	75	map04144
植物激素信号转导 Plant hormone signal transduction	70	map04075
植物-病原互作 Plant-pathogen interaction	46	map04626
MAPK信号通路-植物 MAPK signaling transduction	44	map04016
RNA运输 RNA transport	39	map03013
氨基糖和核苷酸糖代谢 Amino sugar and nucleotide sugar metabolism	31	map00520
淀粉和蔗糖代谢 Starch and sucrose metabolism	29	map00500
嘌呤代谢 Purine metabolism	28	map00230
mRNA监测通路 MRNA monitoring pathway	26	map03015
RNA降解 RNA degradation	25	map03018
苯丙素的生物合成 Biosynthesis of phenylpropanoid	23	map00940
卟啉和叶绿素代谢 Porphyrin and chlorophyll metabolism	21	map00860
果糖和甘露糖代谢 Fructose and mannose metabolism	21	map00051
氧化磷酸化 Oxidative phosphorylation	21	map00190
丙酮酸代谢 Pyruvate metabolism	20	map00620
泛素介导的蛋白水解作用 Ubiquitin mediated proteolysis	20	map04120
萜类化合物生物合成支柱 sesquiterpenoid and triterpenoid biosynthesis	20	map00900
光合作用 Photosynthesis	19	map00195
半乳糖代谢 Galactose metabolism	18	map00052

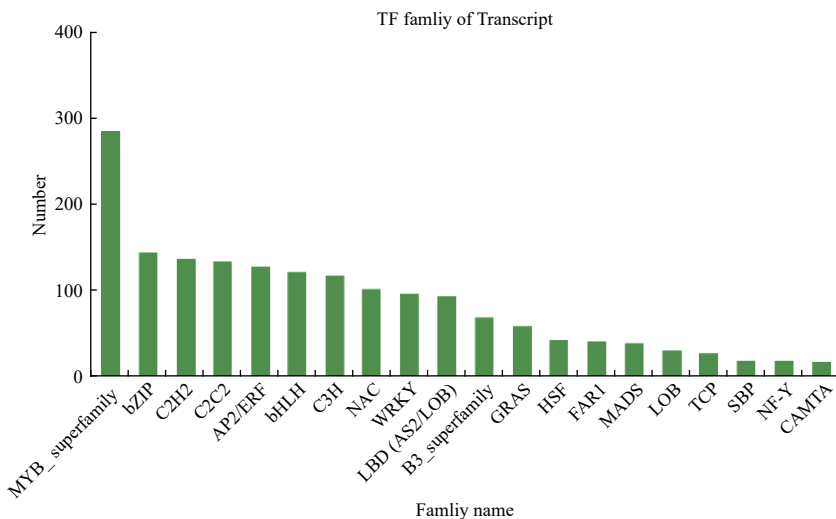


图 5 健康与受害白蜡树韧皮部转录因子家族统计

Fig. 5 Family statistics of transcription factors in phloem of *Fraxinus velutina*

表 5 转录因子家族基因表达量差异统计

Table 5 Statistical table of gene expression difference of transcription factor family

转录因子家族名称 Transcription factor family	Up	Down
C3H	48	25
BHLH	40	18
NAC	25	32
MYB	28	22
B3	20	25
GRAs	16	9
SBP	15	8
WRKY	20	2
LOB	8	10
HSF	7	5
bZIP	0	11
NF-Y	1	8
TCP	1	5
C2H2	1	4
AP2/ERF	2	0
LBD	1	1
FAR1	0	2
MADS	0	2
CAMTA	0	0

重要的经济及生态价值^[8], 是我国城市园林绿化的重要树种。白蜡树易受到蛀干害虫和食叶害虫的危害, 尤其蛀干害虫对白蜡树造成的危害极其显著, 其中以白蜡窄吉丁危害较为突出^[9-10], 其幼虫生活在白蜡树韧皮部并以其为食, 形成 S 型虫道, 从而切断营养及水分的运输, 最终导致白蜡树的死亡^[11]。目前国内外对于白蜡窄吉丁习性及其入侵机制的研究较为深入, 但生产上对白蜡窄吉丁的防治主要依靠化学农药, 该措施虽然可以降低虫口密度, 但同时造成农药残留和环境污染等问题。因此, 如何采用绿色防控手段以高效、环保、可持续的方式控制白蜡窄吉丁为害, 是白蜡树产业亟待解决的问题, 其中利用寄主树本身的抗性来抵御害虫的为害是当前害虫防控研究的热点之一。本研究以健康与受害绒毛白蜡树韧皮部为试验材料, 利用 Illumina 测序技术进行转录组测序, 但由于白蜡树属于木犀科, 目前还尚未有相关同属或同科林木基因组或转录组的报道, 故而采用无参转录组分析。研究结果为后续开展白蜡树与白蜡窄吉丁互作的分子机制及挖掘关键抗虫基因提供科学依据。

植物抵御生物胁迫是一个极其复杂的过程, 涉及到许多相关基因的调控^[12]。本研究从健康与受害韧皮部的转录组数据中筛选到应答胁迫的关键差异转录因子家族, 同时从 DEGs 的 GO 功能富集方面来看, 生物学过程中以细胞过程和代谢过程差异表达基因居多, 且已达到显著水平; 分子功能中以催

3 讨论

白蜡树是我国重要的木材与观赏性植物, 具有

化活性和结合元件差异表达基因居多,证明其在绒毛白蜡树虫害胁迫生理调控中有重要作用。这与 Nalam^[13]研究的 9-脂氧合酶(LOXs)的活性影响拟南芥与病原菌和昆虫相互作用的结果一致。KEGG 代谢途径分析结果显示代谢途径差异表达基因最多,而 Melvin^[14]等人研究植物可通过 Hsp 蛋白诱导甲基乙二醛来调节糖酵解及其他代谢途径从而达到抵御生物和非生物胁迫的作用,因此作者推测白蜡树主要在代谢途径抵御虫害胁迫。另外, Misra^[15]等人在烟草中表达了拟南芥的转录因子 *AtMYB12*,使转基因烟草增加了芦丁的积累而对害虫产生抗性,基于此,本研究通过对健康与受害白蜡树韧皮部转录因子家族差异表达基因的统计挖掘,初步锁定并推测 C3H、BHLH、NAC、MYB、B3 和 GRAS 等转录因子家族参与了绒毛白蜡树响应白蜡窄吉丁胁迫的生理过程。综上,这些代谢通路可能参与了绒毛白蜡韧皮部响应白蜡窄吉丁危害的过程,通路上的一些关键基因或转录因子基因的表达可能是植物抵御虫害胁迫的关键。由此,作者推测一些差异表达的基因是影响绒毛白蜡树抵御虫害胁迫的关键因子或候选基因,这将是本课题组下一步将要开展的研究内容。

基于以上结果,本实验室已初步获得了白蜡树抵御白蜡窄吉丁胁迫的分子证据,这将为我们从分子水平进一步挖掘影响白蜡树抗虫的关键基因,并对其进行生物学分析及功能验证,对关键基因作用的分子机制及相关代谢通路进行研究,进而从形态学、转录组学和分子生物学水平解析白蜡树抵御白蜡窄吉丁胁迫的应答策略,为白蜡树种与窄吉丁昆虫互作的分子机制研究提供科学依据。

4 结 论

本研究通过对健康与受害绒毛白蜡树韧皮部的转录组分析,共鉴定出 DEGs 3 388 个,其中上调 2 141 个,下调 1 247 个。将差异基因划分为 20 个 GO 功能类别,参与 20 个 KEGG 代谢途径,另外差异表达基因分别在 122 条通路中均有富集,包括植物-病原体互作等。健康与受害绒毛白蜡树韧皮部共有 20 个转录因子家族,表达量均达到显著差异。研究结果为揭示白蜡树应对虫害胁迫反应的分子机制提供分子与理论依据。

参 考 文 献:

- [1] Burr S J, Mccullough D G, Poland T M. Density of emerald ash borer (Coleoptera: Buprestidae) adults and larvae at three stages of the invasion wave[J]. *Environmental Entomology*, 2018, 47(1): 121-132.
- [2] Davis J C, Shannon J P, Bolton N W, *et al.* Vegetation responses to simulated emerald ash borer infestation in *Fraxinus nigra* dominated wetlands of Upper Michigan, USA[J]. *Canadian Journal of Forest Research*, 2017, 47(3): 319-330.
- [3] 王小艺, 杨忠岐, 魏 可. 白蜡窄吉丁(鞘翅目: 吉丁甲科)的生物防治研究进展[J]. *中国生物防治学报*, 2015, 31(5): 666-678.
- [4] Limback C K. Tree vigor and its relation to emerald ash borer (*Agriilus planipennis* Fairmaire) adult host preference and larval development on green and white ash trees[J]. *Dissertations & Theses - Gradworks*, 2010: 1487177.
- [5] 孙 元, 王哲玮, 段建军, 等. 白蜡窄吉丁综合防控研究进展[J]. *中国农学通报*, 2012, 29(18): 158-161.
- [6] Hai Z T, Tong G R, Liu H, *et al.* Host range of emerald ash borer, *Agriilus planipennis* Fairmaire, its damage and the countermeasures[J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2005, 48: 594-599.
- [7] Togola A, Boukar O, Belko N, *et al.* Host plant resistance to insect pests of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.): achievements and future prospects[J]. *Euphytica*, 2017, 213(11): 239.
- [8] 窦京海. 白蜡树害虫调查与几种新白蜡害虫的发生规律及防治[D]. 泰安, 山东农业大学, 2016.
- [9] Chamorro M L, Volkovitsh M G, Poland T M, *et al.* Preimaginal stages of the emerald ash borer, *Agriilus planipennis* Fairmaire (Coleoptera: Buprestidae): an invasive pest on ash trees (*Fraxinus*) [J]. *Plos One*, 2012, 7(3): e33185.
- [10] Orlova-Bienkowskaja M J, Belokobylskij S A. Discovery of the first European parasitoid of the emerald ash borer *Agriilus planipennis* Fairmaire (Coleoptera: Buprestidae) [J]. *European Journal of Entomology*, 2014, 111(4): 594-596.
- [11] 路纪芳, 王小艺, 杨忠岐. 中国白蜡窄吉丁研究进展[J]. *应用昆虫学报*, 2012, 49(3): 785-792.
- [12] Zogli P, Libault M. Plant response to biotic stress: is there a common epigenetic response during plant-pathogenic and symbiotic interactions? [J]. *Plant Science*, 2017, 263: 89-93.
- [13] Nalam V J. 9-lipoxygenase oxylipin pathway in plant response to biotic stress [J]. *Dissertations & Theses-Gradworks*, 2012: 3533629.
- [14] Melvin P, Bankapalli K, D'Silva P, *et al.* Methylglyoxal detoxification by a DJ-1 family protein provides dual abiotic and biotic stress tolerance in transgenic plants [J]. *Plant Molecular Biology*, 2017, 94: 381-397.
- [15] Misra P, Pandey A, Tiwari M, *et al.* Modulation of transcriptome and metabolome of tobacco by arabidopsis transcription factor, *AtMYB12*, leads to insect resistance [J]. *Plant Physiology*, 2010, 152(4): 2258-2268.

Transcriptome Changes in the Phloem of *Fraxinus velutina* Torr Response to Infection of *Agrilus planipennis* Fairmaire

FENG Run-xia¹, ZHAO Jie¹, ZHANG Su-fang², WANG Jian-jun³, WEI Jian-rong¹, LIU Jian-feng¹

(1. College of Life Sciences, Hebei University, Baoding 071000, Hebei, China; 2. Research Institute of Forest Ecology,

Environment and Protection, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China;

3. Liaoning Academy of Forestry Sciences, Shenyang 110032, Liaoning, China)

Abstract: [Objective] To study the molecular response mechanism of *Fraxinus velutina* Torr to the infection of *Agrilus planipennis* Fairmaire. [Method] The phloem of non-infested and infested *F. velutina* stem were used as the experimental materials to analyze the transcriptome expression changes of the phloem using RNA-Seq sequencing technology. [Result] By comparing the transcriptome data of non-infested and infested phloem, a total of 3388 DEGs were identified, among which 2141 were up-regulated and 1247 were down regulated. Through GO functional annotation, the differential genes were divided into 20 functional categories, including cellular processes, metabolic processes, catalytic activities, binding elements, transport activities and nucleic acid binding transcription factor activities. The metabolic pathways and functional enrichment of KEGG were analyzed. There were 20 metabolic pathways, including carbohydrate metabolism, amino acid metabolism, energy metabolism and lipid metabolism. In addition, differentially expressed genes were enriched in 122 pathways, including plant-pathogen interactions, metabolic processes, carbohydrate binding, nucleic acid-binding transcription factor activities. According to transcriptome family statistics, it was found that there were 20 transcription factor families in phloem of non-infested and infested *F. velutina*, among which C3H, bHLH, NAC, MYB, B3, GRAS and SBP were significantly different. [Conclusion] The study will provide theoretical basis for revealing the molecular response mechanism of *F. velutina* to insect stress.

Keywords: *Fraxinus velutina*; *Agrilus planipennis*; phloem; transcriptome

(责任编辑: 崔 贝)