

戚良轩, 徐晴玉, 李 晶, 等. 灰飞虱唾液鞘形态及其蛋白质组分鉴定[J]. 江苏农业学报, 2023, 39(1): 30-36.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2023.01.004

## 灰飞虱唾液鞘形态及其蛋白质组分鉴定

戚良轩<sup>1</sup>, 徐晴玉<sup>1</sup>, 李 晶<sup>1</sup>, 鞠佳菲<sup>1</sup>, 孙 洋<sup>2</sup>, 方继朝<sup>1,3</sup>, 纪 锐<sup>1,2,3</sup>

(1.江苏省农业科学院植物保护研究所, 江苏 南京 210014; 2.安徽师范大学生命科学学院/安徽省重要生物资源保护与利用研究重点实验室, 安徽 芜湖 241000; 3.淮阴师范学院/江苏省区域现代农业与环境保护协同创新中心, 江苏 淮安 223300)

**摘要:** 灰飞虱是一种小型的刺吸式口器昆虫, 是危害水稻的主要害虫之一。灰飞虱刺吸取食时分泌的胶状唾液可形成唾液鞘, 保护口针并帮助取食, 同时其中的蛋白质效应子在调控作物免疫中扮演重要角色。本研究利用扫描电子显微镜观察了灰飞虱唾液鞘的形态: 多呈树枝状, 表面为较为光滑的珠状结构。应用双层膜装置收集了若虫的唾液鞘, 经液相色谱与串联质谱联用检测鉴定得到 42 种灰飞虱唾液鞘蛋白质, 其中 19 种蛋白质检测到 2 个及以上的肽段。进一步分析了编码这 19 种蛋白质的基因在各个组织中的表达模式, 发现其中 8 个基因在唾液腺中明显高表达, 推测其可能参与了唾液鞘的形成以及害虫-作物的互作。唾液鞘蛋白质组分鉴定为后续筛选和研究灰飞虱效应子功能提供了基础, 有助于明确灰飞虱-水稻互作的分子机制, 为开发害虫绿色防控新策略提供思路。

**关键词:** 灰飞虱; 唾液鞘; 蛋白质组分

中图分类号: S435.112

文献标识码: A

文章编号: 1000-4440(2023)01-0030-07

## Morphology and protein identification of salivary sheath from *Laodelphax striatellus*

QI Liang-xuan<sup>1</sup>, XU Qing-yu<sup>1</sup>, LI Jing<sup>1</sup>, JU Jia-fei<sup>1</sup>, SUN Yang<sup>2</sup>, FANG Ji-chao<sup>1,3</sup>, JI Rui<sup>1,2,3</sup>

(1. Institute of Plant Protection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 2. Key Laboratory for Conservation and Use of Important Biological Resources of Anhui Province/College of Life Sciences, Anhui Normal University, Wuhu 241000, China; 3. Jiangsu Collaborative Innovation Center of Regional Modern Agriculture & Environmental Protection/Huaiyin Normal University, Huai'an 223300, China)

**Abstract:** Small brown planthopper (SBPH) *Laodelphax striatellus*, the tinny sap-sucking insects, is one of the most destructive herbivores damaging rice in China. During the feeding process, gel saliva secreted by SBPHs can form the salivary sheath to protect stylet and help feeding. Some protein effectors in the salivary sheath play important roles in regulating plant immunity. Here, we observed the morphology of SBPH salivary sheaths under scanning electron microscope; most salivary sheaths were dendritic and had smooth bead structures in the surface. The salivary sheaths of SBPH nymphs were collected using double membrane device. After the liquid chromatography-tandem mass spectrometer (LC-MS/MS) analysis, 42 proteins were finally identified in the salivary sheaths, and among them, 19 proteins with two or more unique peptides were detected. Using quantitative polymerase chain reaction, we analyzed

收稿日期: 2022-09-26

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31871965); “十四五”国家重点研发计划项目(2021YFD1401100); 江苏省农业科技自主创新基金项目[CX(22)3018]

作者简介: 戚良轩(1993-), 男, 安徽铜陵人, 博士, 助理研究员, 主要从事作物与害虫互作研究, (E-mail) 470724564@qq.com。徐晴玉为共同第一作者。

通讯作者: 纪 锐, (E-mail) jirui@jaas.ac.cn; 方继朝, (E-mail) fangjie@jaas.ac.cn

plant immunity. Here, we observed the morphology of SBPH salivary sheaths under scanning electron microscope; most salivary sheaths were dendritic and had smooth bead structures in the surface. The salivary sheaths of SBPH nymphs were collected using double membrane device. After the liquid chromatography-tandem mass spectrometer (LC-MS/MS) analysis, 42 proteins were finally identified in the salivary sheaths, and among them, 19 proteins with two or more unique peptides were detected. Using quantitative polymerase chain reaction, we analyzed

the expression patterns of genes encoding these 19 proteins in different tissues of SBPH, and found eight genes with dramatically higher expression levels in the salivary gland, suggesting their importance in the formation of salivary sheaths and interaction of insect and plant. These results lay a solid foundation for studying the function of SBPH salivary sheath, revealing the detailed mechanism of SBPH-rice interaction, and developing green pest management strategies.

**Key words:** *Laodelphax striatellus*; salivary sheath; protein component

作物与害虫之间一直存在共同进化的“军备”竞赛。作物通过受体识别与感知害虫的相关分子信号激活一系列的免疫反应,比如:诱发钙离子内流,激活丝裂原活化蛋白激酶途径,诱导活性氧爆发和抗虫激素积累,进而产生有毒物质影响昆虫的取食、发育,或产生挥发物来吸引害虫天敌。相应地,害虫也进化出各种对抗策略来逃避与破解植物的防御反应,分泌效应子至宿主作物体内就是其中的重要策略之一<sup>[1]</sup>。

灰飞虱(*Laodelphax striatellus*)等刺吸式口器害虫在取食过程中,向作物体内不断地分泌2种类型的唾液——水状唾液与胶状唾液,调控植物免疫,帮助昆虫取食<sup>[2]</sup>。水状唾液中的酶类可以将植物的营养物质初步降解,有利于消化吸收,部分效应子还能以多种形式与植物抗虫因子相互作用,比如,(1)酶解宿主植物中的抗虫物质:褐飞虱(*Nilaparvata lugens*)唾液中的内切 $\beta$ -1,4-葡聚糖酶能分解水稻中的纤维素,便于口针在水稻细胞间和向细胞内穿刺时突破细胞壁屏障,帮助其顺利取食<sup>[3]</sup>。灰飞虱唾液中的DNase II能够降解刺吸损伤时植物产生的胞外DNA,进而抑制刺吸损伤诱导的防御反应<sup>[4]</sup>;(2)与植物细胞内的金属离子结合:褐飞虱和灰飞虱唾液中的钙结合蛋白通过结合水稻细胞质中的 $\text{Ca}^{2+}$ ,阻断钙信号通道,抑制取食所诱导的水稻胼胝质沉积以及抗虫信号分子的积累<sup>[5-7]</sup>;(3)与植物中的关键抗虫蛋白质互作:灰飞虱效应子卵黄原蛋白在细胞核中与免疫调控转录因子OWRKY71互作,并抑制其转录活性,进而抑制OsWRKY71介导的防御反应<sup>[8]</sup>;烟粉虱(*Bemisia tabaci*)效应子Bt56、Bsp9、Armet分别和寄主植物中的转录因子NTH202和WRKY33以及半胱氨酸蛋白酶抑制子CYS6互作,抑制植物免疫<sup>[9-11]</sup>。然而,胶状唾液的成分鉴定和功能分析的报道相对较少,目前仅在褐飞虱中鉴定到16种蛋白质<sup>[12]</sup>。胶状唾液分泌

进入植物体内后凝结成唾液鞘,包裹、润滑和保护口针<sup>[13]</sup>,还能隔绝口针和植物细胞结构的接触,封闭针刺产生的细胞伤口,防止植物细胞内容物外流所引发的免疫反应。飞虱唾液鞘中的主要蛋白质(Salivary sheath protein和Mucin)对于唾液鞘的形成和取食至关重要<sup>[14-15]</sup>,沉默Mucin能影响飞虱的取食行为,不利于植物病毒的水平传播<sup>[16]</sup>,而且Mucin还可以被作物识别,激发强烈的防御反应<sup>[15]</sup>。

灰飞虱属半翅目飞虱科害虫,由其直接取食、产卵和传播病毒病所引起的粮食减产损失极其严重。唾液是植物-病毒-昆虫三者互作的关键因素,鉴定灰飞虱的唾液鞘蛋白效应子,设计相应策略阻断这些唾液效应子的功能,一方面可以有效地控制灰飞虱的直接危害,另一方面通过抑制其取食来阻断作物病毒的水平传播,起到“一石二鸟”的作用。本研究拟在电子显微镜下观察灰飞虱唾液鞘的形态,利用液相色谱与串联质谱联用(Liquid chromatography-tandem mass spectrometer, LC-MS/MS)等方法鉴定灰飞虱唾液鞘蛋白质组分,并采用定量PCR技术对唾液鞘基因的组织表达模式进行分析,为后续效应子筛选积累重要的蛋白质资源。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试昆虫

灰飞虱在人工气候室内[温度:( $28\pm 1$ )℃;光周期:14 h光照、10 h黑暗]以南粳9108稻苗为寄主进行饲养。

### 1.2 双层膜夹蔗糖溶液

用高压灭菌后的超纯水溶解蔗糖,配置成2.5%的蔗糖溶液,经针孔式过滤器(滤膜孔径0.22  $\mu\text{m}$ )除菌。将Parafilm膜裁成小方块,置于紫外灯下灭菌1 h。将充分拉伸过的膜覆盖在双通玻璃管的一端,另一端用纱布包住透气。将80  $\mu\text{l}$ 蔗糖溶液滴到膜的中央位置,再覆上第2层膜,压紧2层膜使蔗

糖溶液在膜间充分铺展。

### 1.3 唾液鞘样品处理及形态观察

(1) 样品收集与清洗: 将约 60 头 4~5 龄灰飞虱若虫放进双通管中, 待灰飞虱在上述的 Parafilm 膜上取食蔗糖溶液 24 h 后, 用 75% 乙醇溶液轻轻漂洗带有唾液鞘的膜。(2) 固定: 将 4% 多聚甲醛与 2.5% 戊二醛 (2:1, 体积比) 混合配置成固定液, 对 Parafilm 膜进行固定, 然后去除固定液, 并用 PBS 溶液进行清洗。(3) 脱水: 用梯度浓度的乙醇溶液 (30%~100%) 对样品进行梯度脱水。(4) 置换: 向上述样品中倒入醋酸异戊酯和乙醇 (1:2, 体积比) 的混合液, 适当摇动 10 min; 转移膜至醋酸异戊酯: 乙醇 (1:1, 体积比) 的混合液中, 摇动 10 min; 最后转移膜至醋酸异戊酯中, 缓慢摇动 10 min, 从样品中充分置换出乙醇。(5) 干燥: 用滤纸吸除样品表面残留的醋酸异戊酯, 将样品膜在室温下干燥 24 h, 然后转移至 50 °C 的烘箱中, 干燥 2 h; (6) 粘样、镀膜: 采用导电双面胶将膜粘到样品台上, 利用离子溅射法镀膜; (7) 样品观察: 在扫描电镜观察室进行观察, 拍摄获得唾液鞘的清晰图片。涉及的具体方法参照文献[17]。

### 1.4 唾液鞘收集

在体视显微镜下观察, 用镊子从 Parafilm 膜上取下完整的唾液鞘, 放入 SDT 蛋白裂解液中, -80 °C 保存。取约 6 000 头若虫的唾液鞘, 超声波破碎处理 (100 W 工作 10 s, 间歇 10 s, 循环 10 次), 沸水浴 10 min。离心后取上清液, 利用胰蛋白酶进行充分酶解, 获得肽段。

### 1.5 LC-MS/MS 测定

上述酶解后的肽段上样到经 0.1% 甲酸溶液平衡过的色谱柱, 再经分析柱分离, HPLC 系统流速设定为 0.3  $\mu\text{L}/\text{min}$ 。色谱分离后的产物进一步用 Q-Exactive 质谱仪检测 2 h。

### 1.6 质谱数据分析和蛋白质鉴定

将获得的质谱数据利用 MASCOT 软件比对灰飞虱基因组预测的蛋白质数据库 ([https://www.ncbi.nlm.nih.gov/data-hub/genome/?taxon=195883&annotated\\_only=true&refseq\\_annotation=true&genbank\\_annotation=true](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/data-hub/genome/?taxon=195883&annotated_only=true&refseq_annotation=true&genbank_annotation=true))。参数设定如下: enzyme 为 trypsin; missed cleavage sites 为 2; fixed modification 为 carbamidomethyl; variable modification 为 oxidation (M) 和 Acetyl (Protein N-term); 过滤参数  $FDR \leq 0.01$ 。

### 1.7 灰飞虱各组织总 RNA 提取和荧光定量 PCR 分析

灰飞虱各组织总 RNA 的提取参照普洛麦格生物技术有限公司的总 RNA 提取试剂盒说明书进行, 提取的总 RNA 用琼脂糖凝胶电泳和艾本德有限公司的微量分光光度计检测其质量和浓度。cDNA 合成参照宝生物工程有限公司的反转录试剂盒说明书进行。定量 PCR 配置体系和方法参照宝生物工程有限公司的染料法荧光定量试剂盒 (TB Green™ Premix Ex Taq™ kit) 说明书进行, 在罗氏的 LightCycler 480 II 实时荧光定量 PCR 仪上进行反应。灰飞虱延伸因子基因 (*EF-1*) 为内参基因, 唾液鞘基因相对表达量的计算采用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  方法[8]。

## 2 结果与分析

### 2.1 灰飞虱唾液鞘形态

利用扫描电子显微镜观察 Parafilm 膜上的灰飞虱唾液鞘的形态。唾液鞘多为树枝状, 可有多个分叉, 大多数表面为较光滑的珠状结构 (图 1)。

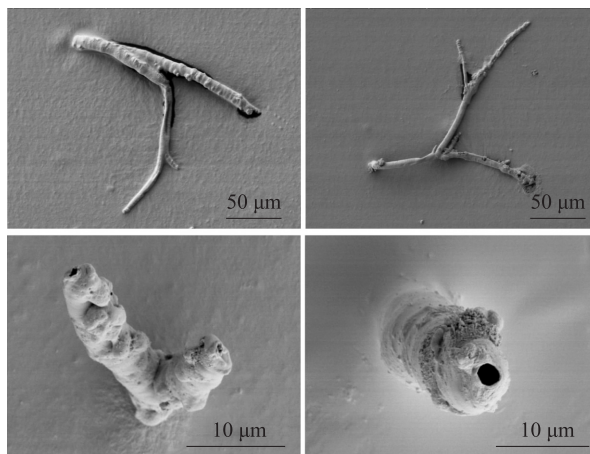


图 1 扫描电子显微镜观察的灰飞虱唾液鞘的形态

Fig.1 Morphological observation of small brown planthopper salivary sheath under scanning electron microscope

### 2.2 灰飞虱唾液鞘样品质量检测

收集到 69.7  $\mu\text{g}$  灰飞虱唾液鞘蛋白质, 利用 SDS-PAGE 分析了唾液鞘样品的质量, 蛋白质条带 (考染) 清晰、丰富 (图 2), 表明唾液鞘蛋白质含量较高, 并且未发生明显的降解和损失。唾液鞘样品质量较好, 可满足后续蛋白质组分测定的要求。

### 2.3 灰飞虱唾液鞘蛋白质鉴定与注释

利用 LC-MS/MS 检测了灰飞虱唾液鞘的蛋白质成分,共鉴定到 42 种蛋白质,其中 19 种蛋白质检测到的肽段数量较多,有 2~34 个唯一肽段;其他 23 种蛋白质只检测到 1 条唯一肽段。利用 SignalP-5.0 预测这些唾液鞘蛋白质的信号肽序列:仅 4 个含信号肽,分别是精氨酸激酶和肌动蛋白,以及 2 个未知功能蛋白质(KAF7751974.1 和 RZF33379.1)。

将鉴定到的蛋白质氨基酸序列比对到 NCBI 的 Non-Redundant Protein (NR) 数据库进行功能注释,发现其中 36 个具有功能注释结果(表 1)。肌球蛋白重链在唾液鞘蛋白质中含量最高,检测到 34 个唯一肽段。副肌球蛋白质的含量次之,检测到 12 个唯一肽段。

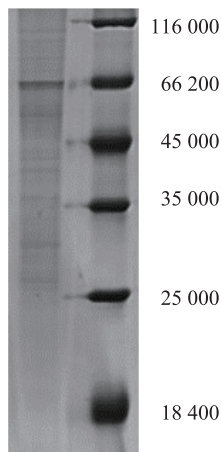


图 2 SDS-PAGE 分析灰飞虱唾液鞘样品

Fig.2 Analysis of small brown planthopper salivary sheaths using SDS-PAGE

### 2.4 灰飞虱唾液鞘基因的组织表达模式

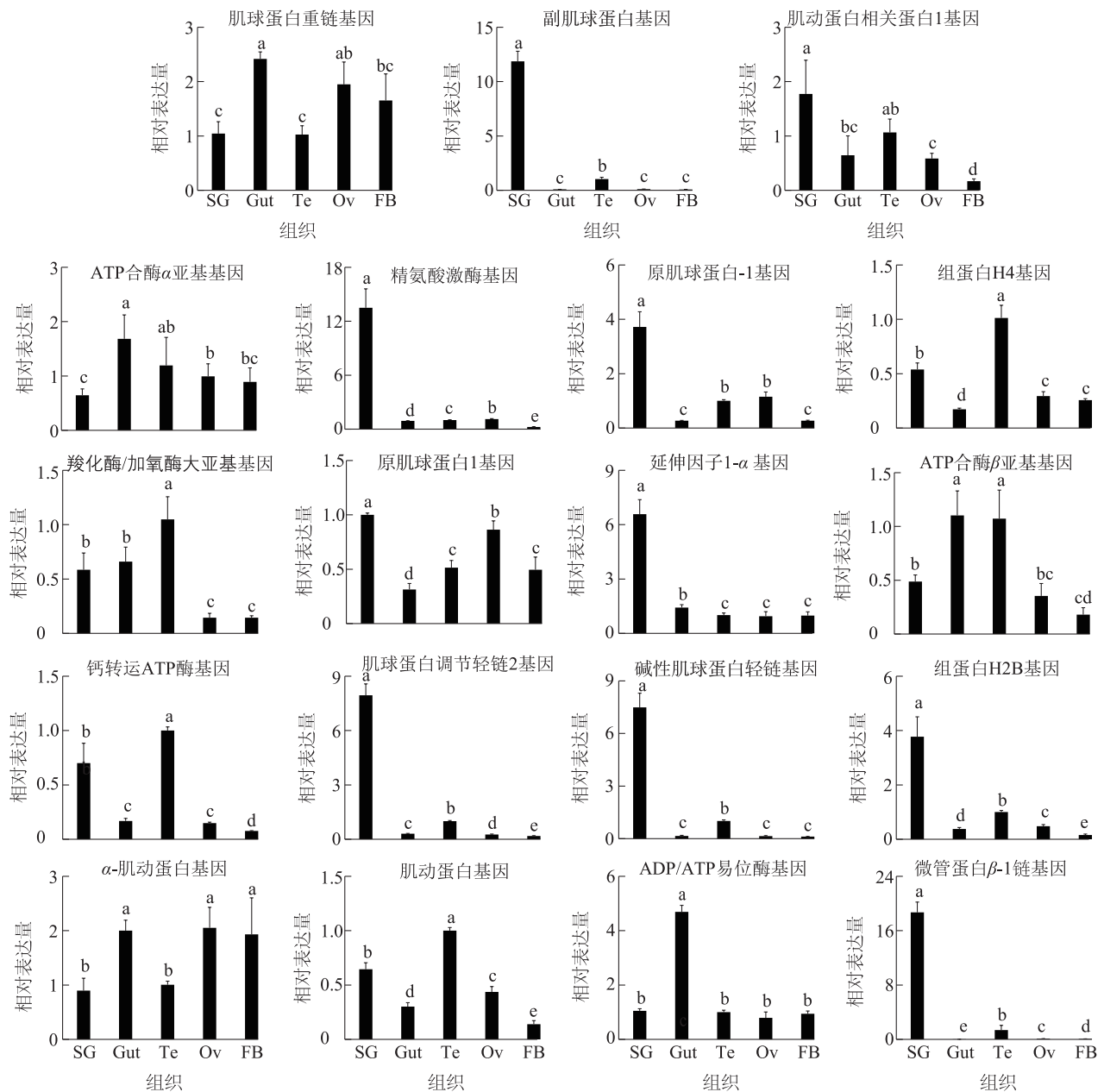
检测到 19 种唾液鞘蛋白质的唯一肽段数  $\geq 2$  (表 1),表明这些蛋白质的鉴定结果可信度较高,因此利用定量 PCR 探究了这 19 个基因在灰飞虱各组织中的表达模式,引物见表 2。结果(图 3)表明,编码副肌球蛋白、精氨酸激酶、原肌球蛋白-1、延伸因子 1- $\alpha$ 、肌球蛋白调节轻链 2、碱性肌球蛋白轻链、组蛋白 H2B 以及微管蛋白  $\beta$ -1 链的 8 个基因在唾液腺中特异性高表达,而在脂肪体、肠道、精巢以及卵巢中表达量很低。其余基因在灰飞虱各个组织中均有不同程度的表达。

表 1 灰飞虱唾液鞘蛋白质组分

Table 1 Protein components of small brown planthopper salivary sheath

蛋白质组分	登录号	唯一肽段数	是否含有信号肽
肌球蛋白重链	APA34054.1	34	否
副肌球蛋白	RZF40854.1	12	否
肌动蛋白相关蛋白 1	RZF32723.1	10	否
ATP 合酶 $\alpha$ 亚基	AIL26069.1	5	否
精氨酸激酶	RZF41846.1	4	是
原肌球蛋白-1	RZF37477.1	3	否
组蛋白 H4	XP_015372596.1	3	否
羧化酶/加氧酶大亚基	ASD35392.1	3	否
原肌球蛋白 1	RZF46537.1	3	否
延伸因子 1- $\alpha$	RZF35682.1	3	否
ATP 合酶 $\beta$ 亚基	RZF41650.1	3	否
钙转运 ATP 酶	RZF36560.1	2	否
肌球蛋白调节轻链 2	RZF41800.1	2	否
碱性肌球蛋白轻链	RZF45242.1	2	否
组蛋白 H2B	AAB48092.1	2	否
$\alpha$ -肌动蛋白	RZF39134.1	2	否
肌动蛋白	GFT55090.1	2	否
ADP/ATP 易位酶	RZF32594.1	2	否
微管蛋白 $\beta$ -1 链	XP_022207921.1	2	否
原肌球蛋白-1	XP_022187623.1	1	否
未知功能蛋白	XP_022168166.1	1	否
未知功能蛋白	RZF39757.1	1	否
未知功能蛋白	RZF47266.1	1	否
黏蛋白	JF502033.1	1	是
动力蛋白 $\beta$ 链	RZF44437.1	1	否
剪接因子 1	KAF7742323.1	1	否
光系统 II CP43 反应中心蛋白	KAH9752498.1	1	否
可能的分泌蛋白	QMU23604.1	1	否
组蛋白 H4	CAF9928778.1	1	否
未知功能蛋白	KAF7751974.1	1	是
表皮蛋白 7	XP_022186634.1	1	否
ATP 合酶 $\alpha$ 亚基	KXN69528.1	1	否
线粒体 F1F0 ATP 合酶	RCI05405.1	1	否
肌动蛋白	AMZ01553.1	1	否
未知功能蛋白	RZF40234.1	1	否
热休克蛋白 70-5	AQP31338.1	1	否
微管蛋白 $\alpha$ -1 链	RZF47578.1	1	否
原肌球蛋白-1	RZF41119.1	1	否
液泡蛋白分选蛋白	XP_022195458.1	1	否
ATP 合酶脂质结合蛋白	RZF46192.1	1	否
包含 BTB/POZ 结构域的蛋白 1	RZF37421.1	1	否
未知功能蛋白	RZF33379.1	1	是





SG:唾液鞘;Gut:肠道;Te:精巢;Ov:卵巢;FB:脂肪体。不同字母表示组织间同一基因的相对表达量具有显著性差异( $P < 0.05$ )。

图3 灰飞虱唾液鞘基因的组织表达模式

Fig.3 Expression pattern of salivary sheath genes in different tissues of small brown planthopper

### 3 讨论

本研究利用扫描电子显微镜观察到灰飞虱唾液鞘呈树枝状的清晰形态,并收集了大量的灰飞虱唾液鞘样品,利用 LC-MS/MS 测定了其蛋白质组分,鉴定得到 42 个灰飞虱唾液鞘蛋白质,其中 ATP 合成酶,肌动蛋白和 Mucin 在褐飞虱唾液鞘蛋白质中也被鉴定到<sup>[12]</sup>,其他唾液鞘蛋白质组分为首次报道。我们鉴定到的灰

飞虱唾液鞘蛋白质数量虽然比褐飞虱唾液鞘中鉴定得到的蛋白质数量(16 种)要多<sup>[12]</sup>,但是远少于水状唾液中鉴定得到的蛋白质数量(褐飞虱水状唾液中鉴定到 149 种蛋白质,灰飞虱中鉴定到 236 种)<sup>[18]</sup>,这说明水状唾液中蛋白质比胶状唾液中蛋白质的种类和功能更丰富,这可能是因为水状唾液参与了飞虱取食、体外消化和降解、调控水稻防御等多种功能,而胶状唾液多为结构性蛋白质,其主要参与唾液鞘形成。

表 2 灰飞虱唾液鞘基因定量 PCR 检测的引物

Table 2 Primers used for qPCR detection of salivary sheath genes in small brown planthopper

检测基因	引物(5'→3')
肌球蛋白重链	F: CGTGGTAAGAGGAGGAACGA R: TTCTTTGAGCTGGCACCAAC
副肌球蛋白	F: AACTGGAAGTGGACGAGGAG R: CTGGGTCTGTTTGTCCAAGC
肌动蛋白相关蛋白 1	F: CCATGTACGTTGCCATCCAG R: AGGTAGTCGGTCAAGTCACG
ATP 合酶 $\alpha$ 亚基	F: GCCGTGTATTGAGCATTGGT R: CAATGTCGCCCTCCTTGATG
精氨酸激酶	F: ACCTTCCTCGTATGGTGCAA R: TGGGGCAGAAGGTCAAGAAT
原肌球蛋白-1	F: CCAACCAACTGAAGGAAGCC R: ACCGACAACCTTCAACTCCT
组蛋白 H4	F: TCCGGTTTGATTACGAAGAAAC R: ACCTCCGAAACCGTAAAGAG
羧化酶/加氧酶大亚基	F: ATGAGTGTCTACGTGGTGGA R: TCTTCACATGTACCCGCACT
原肌球蛋白 1	F: TGAGGAGGCCGACAAGAAAT R: TCTGGGTCCCTTTTCTTCT
延伸因子 1- $\alpha$	F: AAGTGGCGAGGTATCGACAA R: TACTTGGCCGTCTCGAACTT
ATP 合酶 $\beta$ 亚基	F: GATCGGTCTGTTTGGTGGTG R: TGTCTTGAGCGAGATGACA
钙转运 ATP 酶	F: TGACCACTGTGACAGCGTTTG R: TCCTTGGCCCTGATCTTCTG
肌球蛋白调节轻链 2	F: GCTCAAAGGGCTCCAAGAAG R: CTTACGCGAGCATGTCATCC
碱性肌球蛋白轻链	F: GCTCTACGACAAGGCTGAGA R: AGCCAGGAATGGATGTAGG
组蛋白 H2B	F: TCACTACAACAACGCTCGAC R: ACTGCTTTTGTTCCTCACT
$\alpha$ -肌动蛋白	F: GACGGCAACCTGAAGATGAC R: GCCAAACCGTCTTGAAACT
肌动蛋白	F: TGGATTGCGTGGACGAGAT R: TCGGGCAATTCTGAGGACTT
ADP/ATP 易位酶	F: TCACTCTGCTTCGTCTACCC R: CGACACTCCGAATCCTCTGT
微管蛋白 $\beta$ -1 链	F: CGCCGATCTGAGAAAAGTGG R: ATGGACATTCGGCCTCTGAA
延伸因子	F: TCGAGTCCTTCCAGGAGTTC R: CGACAGATCCTTCTGCGTTA

水状唾液中的降解酶可以帮助昆虫体外消化、分解植物中的营养物质和抗性因子。本研究在唾液鞘中虽然未检测到相关的降解酶,但鉴定到一些与能量代谢相关的酶,比如 ADP /ATP 转移酶和 5 种 ATP 合成酶,这在稻飞虱水状唾液、胶状唾液中也检测到<sup>[5,12]</sup>,其可能在植物中发挥了与消耗能量

相关的功能。此外,还发现了肌球蛋白、原肌球蛋白、副肌球蛋白、微管蛋白、肌动蛋白等参与维持细胞功能的一些结构蛋白质,推测这些蛋白质可能与唾液鞘的形成有关,其在昆虫-植物互作中的功能尚需进一步研究。

灰飞虱唾液鞘蛋白质组分比较丰富,但仅有 4 个蛋白质含有信号肽,这与其他刺吸式口器昆虫唾液中大部分蛋白质不含信号肽类似,说明除了内质网-高尔基体这一经典的分泌途径外,唾液蛋白质还有着其他非经典的分泌方式<sup>[12]</sup>。不同的唾液鞘基因在灰飞虱各组织中的表达模式不尽相同,测定的 19 个基因中,42% 的基因在唾液腺中的表达水平显著高于在其他组织中的表达量,这些蛋白质可能在唾液腺中合成,然后被分泌到寄主作物中,主要在保持唾液腺的生理功能、维持正常的取食行为或调控水稻防御过程中发挥重要作用,它们是潜在的效应子。

唾液鞘蛋白质除了具有参与唾液鞘形成以及介导昆虫与植物互作的功能,还可能参与植物病毒的传播。普通的非虫接种方式很难使病毒感染植物,唾液作为植物-病毒-昆虫三者互作的关键因素,极可能是病毒侵染作物并且传播爆发的关键因子。水稻条纹病毒(Rice stripe virus, RSV)随着灰飞虱唾液进入到水稻中,最近研究发现唾液鞘蛋白质 Mucin 与唾液鞘形成相关,通过影响灰飞虱的取食行为来干扰 RSV 的水平传播,表明正常结构的唾液鞘对于刺吸式口器害虫水平传播植物病毒极为重要<sup>[16]</sup>。

由于唾液鞘蛋白质在植物-病毒-昆虫互作中的重要性及其功能的多样性,本研究鉴定到的 42 种灰飞虱唾液鞘蛋白质是研究灰飞虱-水稻-病毒互作过程中的重要里程碑。深入研究这些蛋白质在帮助灰飞虱危害作物和传播病毒过程中的作用,一方面有利于明晰害虫-病毒-作物互作背后复杂的分子机制等基础科学问题,另一方面鉴定出的效应子以及与效应子互作的水稻抗虫因子,可以成为抗性育种、新型 RNAi 生物农药、高效防控的新靶标,这对于制定害虫可持续治理对策、研发新的绿色防控产品及技术,具有重要价值。

#### 参考文献:

- [1] 董玉妹,张美倩,沈 慧,等. 植食性昆虫唾液效应子和激发子的研究进展[J]. 昆虫学报, 2021, 64(8): 982-997.

- [2] COHEN C A. Extra-oral digestion in predaceous terrestrial arthropoda[J]. Annual Review of Entomology, 1995, 40: 85-103.
- [3] JI R, YE W F, CHEN H D, et al. A salivary endo- $\beta$ -1, 4-glucanase acts as an effector that enables the brown planthopper to feed on rice[J]. Plant Physiology, 2017, 173: 1920-1932.
- [4] HUANG H J, CUI J R, XIA X, et al. Salivary DNase II from *Laodelphax striatellus* acts as an effector that suppresses plant defence[J]. New Phytologist, 2019, 224(2): 860-874.
- [5] FU J M, SHI Y, WANG L H, et al. Planthopper-secreted salivary calmodulin acts as an effector for defense responses in rice[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 841378.
- [6] TIAN T, JI R, FU J M, et al. A salivary calcium-binding protein from *Laodelphax striatellus* acts as an effector that suppresses defense in rice[J]. Pest Management Science, 2021, 77(5): 2272-2281.
- [7] YE W F, YU H X, JIAN Y K, et al. A salivary EF-hand calcium-binding protein of the brown planthopper *Nilaparvata lugens* functions as an effector for defense responses in rice[J]. Scientific Reports, 2017, 7: 40498.
- [8] JI R, FU J M, SHI Y, et al. Vitellogenin from planthopper oral secretion acts as a novel effector to impair plant defenses[J]. New Phytologist, 2021, 232: 802-817.
- [9] WANG N, ZHAO P Z, MA Y H, et al. A whitefly effector Bsp9 targets host immunity regulator WRKY33 to promote performance[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society B, 2019, 374(1767): 20180313.
- [10] XU H X, QIAN L X, WANG X W, et al. A salivary effector enables whitefly to feed on host plants by eliciting salicylic acid-signaling pathway[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2019, 116(2): 490-495.
- [11] DU H, XU H X, WANG F, et al. Armet from whitefly saliva acts as an effector to suppress plant defenses by targeting tobacco cystatin[J]. New Phytologist, 2022, 234(5): 1848-1862.
- [12] HUANG H J, LIU C W, HUANG X H, et al. Screening and functional analyses of *Nilaparvata lugens* salivary proteome[J]. Journal of Proteome Research, 2016, 15: 1883.
- [13] SÖGAWA K. The rice brown planthopper: feeding physiology and host plant interactions[J]. Annual Review of Entomology, 2003, 27(1): 49-73.
- [14] HUANG H J, LIU C W, CAI Y F, et al. A salivary sheath protein essential for the interaction of the brown planthopper with rice plants[J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2015, 66: 77-87.
- [15] SHANGGUAN X X, ZHANG J, LIU B F, et al. A mucin-like protein of planthopper is required for feeding and induces immunity response in plants[J]. Plant Physiology, 2018, 176(1): 552-565.
- [16] HUO Y, ZHAO J, MENG X Y, et al. *Laodelphax striatellus* saliva mucin enables the formation of stylet sheathes to facilitate its feeding and rice stripe virus transmission[J]. Pest Management Science, 2022, 78(8): 3498-3507.
- [17] 鞠佳菲, 孙洋, 刘宝生, 等. 一种制备稻飞虱唾液鞘扫描电镜样品的方法: ZL201811514920.X[P]. 2021-06-01.
- [18] HUANG H J, LU J B, LI Q, et al. Combined transcriptomic/proteomic analysis of salivary gland and secreted saliva in three planthopper species[J]. Journal of Proteomics, 2018, 172: 25-35.

(责任编辑:陈海霞)