

桉蝙蛾嗅觉相关蛋白的鉴定及部分新鉴定蛋白的表达分析

陈 宇, 胡 平*

广西大学林学院, 广西南宁 530004

摘 要: 桉蝙蛾 (*Endoclita vietnamensis* Buchsbaum & Grehan) 是近年来新发现的桉树蛀干害虫, 是一种典型的本地昆虫适应外来寄主的实例。成虫将卵散产于林下地面, 其幼虫孵化后在落叶层地栖至 3 龄, 后转移树上危害, 即使在混交林中幼虫也能准确定位寄主, 可推测出幼虫的嗅觉系统有助于其选择宿主。此外, 嗅觉系统在成虫求偶交配过程中也发挥着重要作用。在此, 本研究对桉蝙蛾 5 龄幼虫头部、12 龄幼虫头部及胸腹和成虫触角转录组进行研究, 并探讨嗅觉蛋白的表达谱。结果共鉴定出 66 种嗅觉蛋白, 其中 14 种为新鉴定的嗅觉蛋白, 包括 3 种气味结合蛋白 (OBPs)、4 种气味受体 (ORs)、1 种味觉受体 (GRs) 和 6 种离子型受体 (IRs)。表达谱显示除 OR22 和 OR25 在 5 龄幼虫头部中不表达外, 所有的 OBPs、ORs 和 GRs 在测定的 3 个时期内均有不同程度的表达。其中 EsigOR23 在所有嗅觉蛋白中表达量最高, 且在 5 龄幼虫头部显著高表达; EsigGOBP9 在成虫触角中的表达量显著高于 5 龄和 12 龄。本研究结果为进一步研究桉蝙蛾的化学感觉提供分子基础。EsigOR23 和 EsigGOBP9 具有独特的表达模式, 可能分别是影响幼虫寄主选择的因素和成虫求偶行为中的重要蛋白, 值得进一步探索。

关键词: 桉蝙蛾; 表达谱; 嗅觉相关蛋白; 转录组

中图分类号: Q963

文献标志码: A

Identification of Olfactory Related Proteins and Expression Analysis of Some Newly Identified Proteins in *Endoclita vietnamensis*

CHEN Yu, HU Ping*

College of Forestry, Guangxi University, Nanning, Guangxi 530004, China

Abstract: *Endoclita vietnamensis* Buchsbaum & Grehan, a newly discovered pest of dried *Eucalyptus*, is a typical example of native insect adaptation to an alien host. Adult larvae scatter the eggs on the ground below the forest, and the larvae live in the litter layer to the third stage after hatching, and then transfer the damage to the tree. Even in mixed forests, larvae can accurately locate the host, which leads to be assumed that the olfactory system of larvae is conducive to host selection. In addition, the olfactory system also plays an important role in the mating process of adult worms. Here, we studied the transcriptome of the head, chest and abdomen of the 5th instar, 12th instar and antennal antennae of the adult, and investigated the expression profile of olfactory proteins. A total of 66 olfactory proteins were identified, 14 of which were newly identified, including three odor-binding proteins (OBPs), four odor receptors (ORs), one taste receptor (GRs), and six ionic receptors (IRs). The expression profiles showed that all OBPs, ORs and GRs were expressed to varying degrees in the three stages, except OR22 and OR25 which were not expressed in the head of the 5th instar larvae. The expression level of EsigOR23 was the highest among all olfactory proteins, and was significantly high in the head of 5th instar larvae. The expression of EsigGOBP9 in adult antennae was significantly higher than that in adults at 5 and 12 ages. This study would provide a molecular basis for further study of the chemical sensation of the *E. vietnamensis*. EsigOR23 and EsigGOBP9 have unique expression patterns, which may be important proteins affecting host selection in larvae and courtship behavior in adults, respectively, and deserve further exploration.

收稿日期 2024-10-13; 接受日期 2024-11-02

基金项目 广西壮族自治区科技基地和人才专项 (No. 2020AC19057); 国家自然科学基金青年科学基金项目 (No. 32001321); 广西壮族自治区自然科学基金面上项目 (No. 2020JJA130068)。

作者简介 陈 宇 (1999—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 森林保护。*通信作者 (Corresponding author): 胡 平 (HU Ping), E-mail: hupingcs@163.com。

Keywords: *Endoclita vietnamensis*; expression profile; olfactory associated protein; transcriptome

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2025.03.007

桉蝙蛾 (*Endoclita vietnamensis* Buchsbaum & Grehan, 2022), 属鳞翅目 (Lepidoptera) 蝙蝠蛾科 (Hepialidae) 是桉树上的一种重要蛀干性害虫^[1], 在广西分布极为广泛^[2], 且随着广西桉树人工林的大面积种植, 其危害范围逐渐扩大, 已在广西造成较大的经济损失和生态影响^[3]。桉蝙蛾是本地害虫适应外来寄主的典型案例, 其幼虫有地栖和树栖 2 个阶段, 整个幼虫期共有 12 龄^[4], 主要危害 1~3 a 桉树幼林^[5]。雌成虫将卵散产于地面孵化后, 幼虫在腐木或落叶层地栖至 3 龄, 后转移选择寄主上树危害^[4]。即使在桉树混交林中, 桉蝙蛾幼虫也能准确选择并危害桉树^[6], 推测其幼虫在转移过程中能通过嗅觉系统主动识别桉树。在求偶行为中, 桉蝙蛾成虫对同性个体有排斥反应, 而异性个体间却有明显的吸引^[7], 推测成虫通过嗅觉系统识别其他个体释放的信息素, 以此分辨同性或异性, 完成求偶过程。

嗅觉是昆虫感知外界环境, 进行信息交流的关键, 嗅觉系统能够引导昆虫进行寄主定位、觅食、求偶、选择栖息地等行为^[8]。昆虫的嗅觉识别过程复杂, 需要一系列嗅觉相关蛋白参与, 如气味结合蛋白 (odorant binding proteins, OBPs)、化学感受蛋白 (chemosensory proteins, CSPs)、气味受体 (odorant receptors, ORs)、离子型受体 (ionotropic receptors, IRs) 及感觉神经元膜蛋白 (sensory neuron membrane proteins, SNMPs)^[9]。其中, ORs、SNMPs、IRs、GRs 是昆虫嗅觉蛋白中的膜蛋白, OBPs 和 CSPs 是昆虫嗅觉蛋白中的结合蛋白^[10]。结合蛋白在感器淋巴液中结合通过感器表皮孔进入的气味分子^[11], 并将其转运到昆虫的气味受体, 触发嗅觉相关信号转导^[12]。昆虫的各种嗅觉蛋白协同合作, 使得昆虫能在复杂的自然环境中准确地进行化学识别, 从而精准进行寄主选择和求偶交尾等行为活动^[13]。

基于桉蝙蛾 3 龄幼虫地栖转树栖的过程中结合蛋白高表达并在寄主的嗅觉识别中发挥作用^[6], 探究 5 龄、12 龄幼虫期内高表达并对幼虫寄主选择可能产生影响的重要嗅觉相关蛋白。基于桉蝙蛾成虫通过嗅觉系统相互识别进行求偶行为^[7], 探究成虫期内高表达并对求偶行为具有影响的嗅觉相关蛋白。本研究基于桉蝙蛾转录组鉴定的嗅觉相关

蛋白, 通过实时荧光定量 PCR 技术, 测定嗅觉相关蛋白在桉蝙蛾 5 龄幼虫头部、12 龄幼虫头部和成虫触角中的表达情况, 揭示嗅觉相关蛋白的变化规律, 同时基于其表达模式, 探究可能对幼虫寄主选择和对成虫求偶行为有重要影响的嗅觉相关蛋白, 对开发其高效绿色的防治手段有十分重要的意义^[14]。

1 材料与方法

1.1 材料

2023 年 12 月—2024 年 1 月于广西壮族自治区国有高峰林场 (22°907'N, 108°266'E) 的桉树人工林中采集生长健壮、形态发育正常的桉蝙蛾幼虫, 带回实验室, 参照杨秀好^[4]判断桉蝙蛾龄期的方法和标准, 选取活体 5 龄和 12 龄的桉蝙蛾幼虫各 3 头。将所有 5 龄和 12 龄桉蝙蛾幼虫的头部剪下作为桉蝙蛾幼虫头部样品。使用桉树皮为主要原料制成的饲料 (桉树皮、琼脂粉、酵母粉、蔗糖、尼泊尔金甲酯、抗坏血酸和纯水) 在培养皿中继续饲养野外采集的幼虫至其化蛹羽化, 后使用手术剪剪取羽化后的成虫触角, 将触角放入装有 RNAlater 的离心管中保存, 作为桉蝙蛾成虫触角样品。所有样品均保存于 -80 °C 冰箱中。

1.2 方法

1.2.1 cDNA 文库构建及 Illumina 测序 分别对桉蝙蛾 5 龄幼虫头部、12 龄幼虫头部、12 龄幼虫胸腹和成虫触角组织按照 TRIzol[®] Reagent 试剂盒的要求提取总 RNA^[15], 每组 3 个重复。测序工作经由上海美吉生物医药科技有限公司完成。提取样品总 RNA 后, 分别采用 Qubit 4.0、Agilent 2100 和 NanoDrop 分光光度计对样本进行浓度、完整性和纯度质控。选用 Hieff NGS[®] mRNA Isolation Master Kit Yeasen Cat[#]12603 试剂盒, 用带有 Oligo(dT) 的磁珠通过 A-T 互补配对与 mRNA 的 polyA 结合的方式从 Total RNA 中富集 mRNA。随后加入 fragmentation buffer 将 mRNA 打断成短片段, 以 mRNA 为模板, 用六碱基随机引物 (random hexamers) 合成第 1 条 cDNA 链, 然后加入缓冲液、dNTPs RNase H 和 DNA polymerase I 合成第 2 条 DNA 链, 接下来对双链 DNA 进行末

端修复和 3'末端加 poy(A)，连接测序接头，使用 Hieff NGS[®] DNA Selection Beads 磁珠进行纯化及片段选择，最后进行 PCR 扩增，获得文库。使用 Qubit 进行定量质控，文库质量合格后采用 DNBSEQ-T7 进行上机测序。

1.2.2 转录组生物信息学分析 （1）利用 Trimmomatic 筛选和处理所有转录组测序得到的原始测序数据（raw data），以去除低质量和有接头序列，最后筛选得到质控后的测序数据(clean data)。（2）将所有的 clean reads 进行合并后，使用 Trinity 在默认参数下从头组装拼接所有的 clean data，选取 TransRate、CD-HIT 软件对组装结果进行优化过滤，利用 BUSCO 软件对组装结果进行组装评估，确保得到高质量且完整性好的转录组本。（3）选择最长的转录本作为基因的 unigene。（4）使用 BlastX 软件将拼接所得的 unigene 序列在 $E\text{-value}<1e-5$ 的条件下分别与六大数据库（NR、Swiss-prot、Pfam、egNOG、GO 和 KEGG 数据库）进行比对，在 BlastX 的比对结果中，选取得分最高的项作为 unigenes 的注释信息。利用 Blast2GO 软件参照在 NR 数据库中 BlastX 比对结果对 unigene 进行基因本体注释和分类。

1.2.3 嗅觉蛋白基因的鉴定 选取 tBlastN 程序，以 NCBI 数据库中昆虫所有的 OBP_s、CSP_s、OR_s、IR_s 和 GR_s 序列为 Query 来比对按蚊转录组，筛选出与之序列相似性最高的 unigene 作为候选嗅觉蛋白基因，再使用 BlastX 进行验证。

1.2.4 系统发育进化树分析 选用 MEGA 7 软件中的 ClustalW 程序按照默认参数比对序列间的同源性。系统发育树由 MEGA 7 软件进行构建，选用 Neighbor-Joining 法并经过 Bootstrap 进行 1000 次的反复计算来评估树结构和节点的支持度。最后，利用 Figtree 美化系统发育树。

1.2.5 实时荧光定量 PCR 表达分析 选取按蚊转录组新鉴定的嗅觉蛋白中高表达量的 8 个蛋白，使用 Primer 5.0 软件设计荧光定量引物(表 1)；参照陈晓等^[16]的方法，根据所使用按蚊样品的龄期和体段选择内参基因。取 1.2.1 提取的按蚊幼虫和成虫 RNA 进行反转录合成 cDNA，反转录过程按照 HiScript[®] QRT SuperMix for qPCR (+gDNA wiper)反转录试剂盒使用说明书进行。qRT-PCR 在荧光定量 PCR 仪 LIGHT CYCLE 480 II 上进行。20 μL 反应体系：2×SYBR Green Fast qPCR Mix 10 μL，cDNA 模板 1 μL，10 μmol/L 正反引物各 0.4 μL，ddH₂O 8.2 μL。反应程序：94 ℃预变性 30 s；94 ℃变性 5 s，60 ℃退火和延伸共 30 s，45 个循环；65~94 ℃每增加 0.5 ℃保持 5 s 以记录溶解曲线。每个样品采用 3 个生物学重复和 3 个技术重复。Ct 值通过 LightCycler 480 Software release（version1.5.1.62SP3）软件获得。表达量采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算^[17]。参照 ZHANG 等^[12]以 EsigGOBP9 在 5 龄幼虫头部的表达量作为数据分析中的对照样品。

1.3 数据处理

每个基因在各龄期的表达量的显著性分析采用单因素方差分析（one-way nested analysis of variance, ANOVA）中多重比较的 Tukey's honestly significance difference（HSD）检验，分析软件为 SPSS 18.0（International Business Machines Corporation）。

2 结果与分析

2.1 转录组测序和序列组装

按蚊在不同龄期不同部位的转录组测序数据结果良好，经过去除低质量的序列和接头序列后均可获得大量优质数据（表 2）。其中，Q₂₀ 均

表 1 实时荧光定量 PCR 的引物
Tab. 1 Primers for real-time fluorescent quantitative PCR

基因 Gene	正向引物（5'-3'）Forward primer (5'-3')	反向引物（5'-3'）Reverse primer (5'-3')
<i>EsigOBP17</i>	ACACTTGTTTCTCCGAAGCC	AGTATTTAGCAGGACAGGACGT
<i>EsigOBP18</i>	TCGAAACAGGAGAACTTGCTC	TTGGTTAAGATGACAGCGCG
<i>EsigGOBP9</i>	AAGAGGACATCGCCAATTGC	CACCTTCTCCCTCCACTGTT
<i>OR22</i>	TCAAAGAAGCCGATTCCAGT	GTTTCATATTCTGGGCGCAAT
<i>OR23</i>	CGGTCTTCAACTGTGGCTG	ACCCACACCAGTAACAGTCA
<i>OR24</i>	GGAAAGATCGAAACGTCCCA	CCATCTGAATGTACACGTTGC
<i>OR25</i>	GCTTGATCATCTGCCTGACG	CGCTCTCGTAAACCAGTTCCG
<i>EsigGR8</i>	ACCTCAGTTTACAGCCTGGG	AGAGGCTTTCGTTACCAGGA

表 2 桉蝙蛾转录组数据
Tab. 2 Transcriptome data of *E. vietnamensis* Buchsbaum & Grehan

样品 Sample	原始数据 Raw read	筛选后数据 Clean read	总核酸数 Clean base	错误率 Error rate/%	Q ₂₀ /%	Q ₃₀ /%	GC 含量 GC content/%
A1	49 462 752	48 952 368	7 213 010 032	0.0247	98.19	94.43	43.98
A2	44 113 510	43 609 530	6 436 303 835	0.0250	98.05	94.09	43.73
A3	50 604 462	50 001 732	7 380 185 443	0.0246	98.20	94.45	43.81
H1	50 847 054	50 125 564	7 410 415 578	0.0252	97.91	93.94	46.24
H2	54 178 160	53 396 310	7 885 811 486	0.0254	97.83	93.76	46.31
H3	50 644 410	50 056 944	7 457 580 890	0.0255	97.83	93.65	45.74
D1	50 635 098	49 730 766	7 263 379 739	0.0246	98.16	94.59	52.24
D2	45 975 844	45 120 454	6 568 524 055	0.0246	98.16	94.61	51.96
D3	49 019 202	48 086 794	6 966 364 641	0.0245	98.18	94.66	52.21
ALL	52 938 822	52 095 112	7 788 402 482	0.0254	97.84	93.74	47.41

注：A 为成虫触角样品，H 为 12 龄幼虫头部样品，D 为 5 龄幼虫头部样品，ALL 为 12 龄幼虫胸腹样品。
Note: A was adult antennae sample, H was 12th instar larva head sample, D was 5th instar larva head sample, ALL was 12th instar larva chest and abdomen sample.

在 97%以上，Q₃₀ 均在 93%以上，表明测序质量良好。将所有转录组数据合并并使用 Trinity 对这些高质量测序数据进行组装拼接，总共得到 54 894 条 unigenes 和 75 562 条 transcript。unigenes 的总长度为 54 668 278 bp，其中最长为 29 838 bp，最短为 201 bp，平均长度为 995.89 bp，N₅₀ 的长度为 1692 bp，unigenes 的长度分布如图 1 所示。桉蝙蛾转录组的原始数据已提交至 NCBI SRA 数据库（NCBI Sequence Read Archive database），登录号为 PRINA713545。

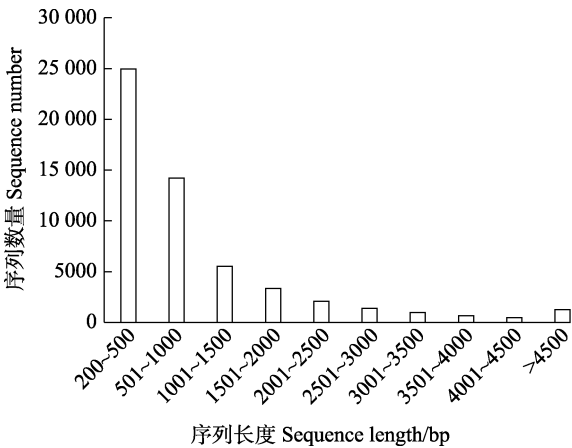


图 1 桉蝙蛾转录组 unigenes 长度分布
Fig. 1 Length distribution of unigenes in transcriptome of *E. vietnamensis* Buchsbaum & Grehan

2.2 同源分析和基因本体注释

如图 2 所示，共有 19 490 条 unigene 可以被注释到六大蛋白数据库中，占有 unigenes 的

35.50%。其中，18 813 条（34.27%）unigenes 注释到 NR 数据库，数目最多；15 939 条（29.04%）unigenes 注释到 eggNOG 数据库，仅次于 NR 数据库；注释到 GO、Pfam 和 Swiss-Prot 数据库的 unigenes 数目分别为 13 343 条（24.31%）、13 146 条（23.95%）和 11 608 条（21.15%）；注释到 KEGG 数据库的 unigenes 有 9874 条（17.99%），数目最少。

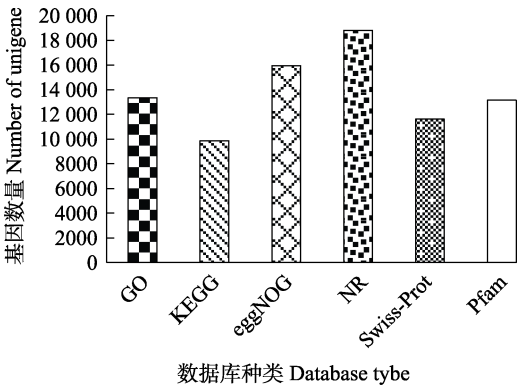


图 2 桉蝙蛾转录组功能注释
Fig. 2 Functional annotation of transcriptome of *E. vietnamensis* Buchsbaum & Grehan

如图 3 所示，通过对桉蝙蛾转录组中 unigenes 在 NR 非冗余蛋白库中进行 BlastX 同源比对，结果显示，最多的物种是鳞翅目昆虫，其中，有 8.18% unigenes 为日本袋蛾（*Eumeta japonica* Heylaerts），其次是二化螟（*Chilo suppressalis* Walker, 4.79%）、斜纹夜蛾（*Spodoptera litura* Fabricius,

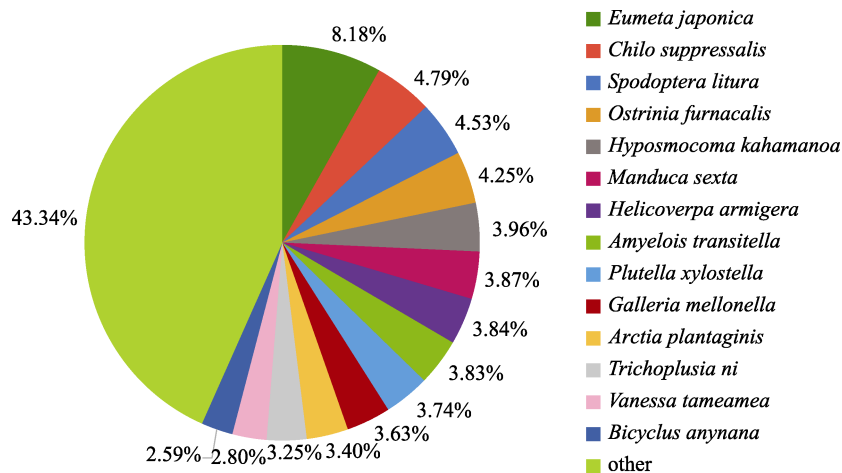


图 3 按蚊转录组 unigenes 在 NR 数据库中的物种分布

Fig. 3 Species distribution of unigenes of *E. vietnamensis* Buchsbaum & Grehan in NR database

4.53%)、亚洲玉米螟 (*Ostrinia furnacalis* Guenee, 4.25%) 和海波斯莫科马属蛾 (*Hyposmocoma kahamanoa* Schmitz & Rubinoff, 3.96%) 等。

如图 4 所示, 归类于分子功能 (molecular function) 的 unigenes 数目最多有 15 611 条, 其次是细胞组分 (cellular component) 有 13 685 条, 生物过程 (biological process) 最少有 11 378 条。细分之后, 归类于分子功能的 unigenes 中结合 (binding) 项所占比例最高, 其次是催化活性 (catalytic activity), 归类于细胞组分的 unigenes 中膜部分 (membrane part) 是最丰富的一项, 其

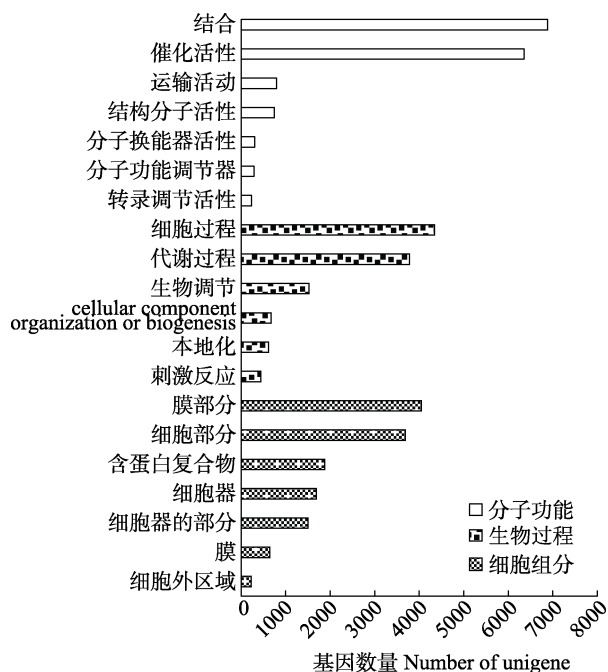


图 4 按蚊转录组 unigene GO 功能注释图

Fig. 4 Annotated figure of unigene GO function on *E. vietnamensis* Buchsbaum & Grehan

次是细胞部分 (cell part); 归类于生物过程的 unigenes 中细胞过程 (cellular process) 是占比最高的一项, 其次是代谢过程 (metabolic process)。

如图 5 所示, 被注释到 KEGG 数据库六大通路的 unigenes 中数目最多的一项是代谢 (metabolism) 有 2107 条, 其次是人类疾病 (human diseases) 有 2009 条, 接下来依次是生物体系统 (organismal systems) 2000 条、遗传信息处理 (genetic information processing) 1672 条、环境信息处理 (environmental information processing) 1363 条, 细胞过程 (cellular processes) 最少仅有 1351 条。其中有 15 条二级通路中 unigenes 的数目大于 400 条, 其余 28 条通路中的 unigenes 均不足 400 条。

2.3 嗅觉蛋白基因的鉴定

为了对比按蚊羽化前后嗅觉相关蛋白的表达变化, 对成虫触角样品和 12 龄幼虫头部样品中嗅觉相关蛋白的表达进行了比较。由表 3 可知, 在按蚊转录组中新鉴定了 3 个 OBPs 基因 *EsigOBP17*、*EsigOBP18* 和 *EsigGOBP9*, 均在成虫触角中的表达量更高, 其中 *EsigGOBP9* 表达量最高; 新鉴定的 4 个 Ors 基因 *OR22*、*OR23*、*OR24*、*OR25*, 其中 *OR22*、*OR23* 在成虫触角中表达量更高, *OR24* 仅在 12 龄幼虫头部表达, *OR25* 仅在成虫触角中表达; 新鉴定的 1 个 GRs 基因 *EsigGR8*, 其在成虫触角中表达量更高; 新鉴定的 6 个 Irs 基因, 其中 *EsigIR20* 在成虫触角中表达量更高, *EsigIR21*、*EsigIR22*、*EsigIR23*、*EsigIR24*、*EsigIR25* 均只在成虫触角中表达。

由表 4 可知, 在按蚊转录组中, 已鉴定的基因包括 16 个 OBPs、6 个 CSPs、19 个 Ors、6

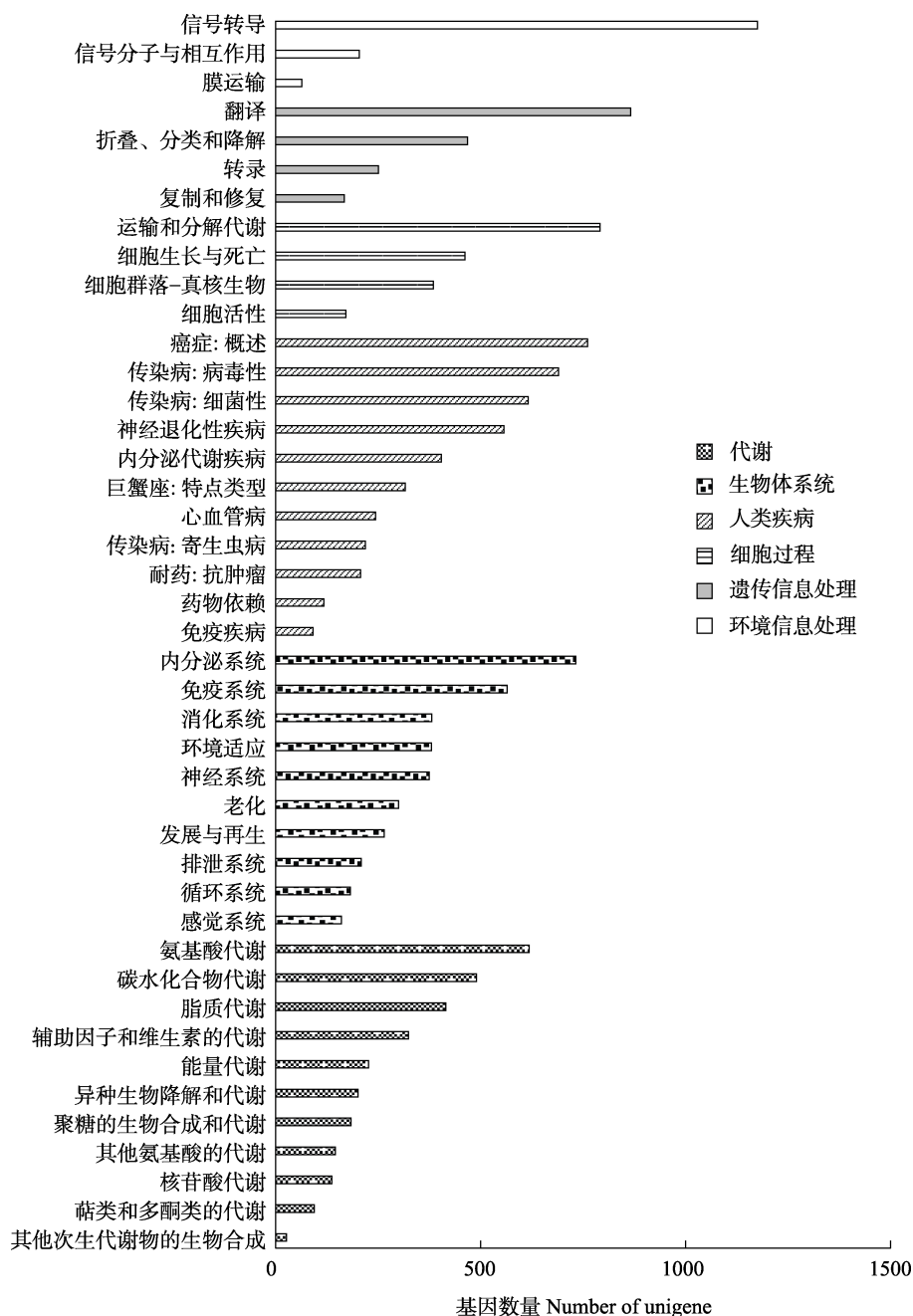


图 5 桉蝙蛾转录组 KEGG 通路分析

Fig. 5 KEGG pathway analysis of transcriptome of *E. vietnamensis* Buchsbaum & Grehan

个 GRs、5 个 Irs。

2.4 系统发育进化树分析

如图 6 所示, 利用桉蝙蛾与其他鳞翅目昆虫共 8 个物种的 OBPs 构建系统发育进化树, 显示新鉴定的桉蝙蛾的 OBPs 并未全部聚集到同一支, 而 EsigOBP17、EsigOBP18 与其他物种的 OBPs 聚集在一起, 形成独立的分支。其中 EsigOBP17 与棉铃虫 HarmOBP19 聚在同一支, EsigOBP18 与桑螟 GpylOBP19、甜菜夜蛾 SexiOBP23 聚在一

起; EsigGOBP9 与桑螟 GpylOBP3 在自展支持率大于 90% 的情况下聚集在同一支, 进化关系较近。

2.5 嗅觉蛋白表达谱

8 个新鉴定的嗅觉蛋白在桉蝙蛾不同时期的表达水平的检测结果如图 7 所示, 并对其表达谱进行分析。在 5 龄幼虫头部中 OR22 和 OR25 不表达, OBPs、ORs 和 GRs 在测定的 3 个时期内均表达。在所有嗅觉蛋白中, OR23 表达量最高; 在 5 龄幼虫头部中, OBP18 和 OR23 表达量最高,

表 3 桉蝙蛾转录组中新鉴定基因

Tab. 3 Newly identified genes in transcriptome of *E. vietnamensis* Buchsbaum & Grehan

基因 Gene	NR 注释 NR description	物种 Species	登录号 Acc. No.	A FPKM	H FPKM	A VS H
<i>EsigOBP17</i>	气味结合蛋白	<i>Dendrolimus houi</i>	AII00985	2.80	0.00	Up
<i>EsigOBP18</i>	气味结合蛋白	<i>Glyphodes pyloalis</i>	QIJ45747	8.46	7.57	Up
<i>EsigGOBP9</i>	一般气味结合蛋白 83a 类	<i>Plutella xylostella</i>	XP_011554700	1585.70	0.80	Up
<i>OR22</i>	气味受体 4 样异构体 X2	<i>Camponotus floridanus</i>	XP_025262854	0.59	0.46	Up
<i>OR23</i>	气味受体 13a 类	<i>Ostrinia furnacalis</i>	XP_028177019	10.31	4.67	Up
<i>OR24</i>	气味受体 46a 类	<i>Spodoptera litura</i>	XP_022817447	0.00	1.17	Down
<i>OR25</i>	未表征蛋白 LOC106136725	<i>Amyelois transitella</i>	XP_013192811	4.72	0.00	Up
<i>EsigGR8</i>	糖的味觉感受器 43a	<i>Camponotus floridanus</i>	XP_025261972	1.69	0.11	Up
<i>EsigIR20</i>	嗜离子受体 IR64a	<i>Cnaphalocrocis medinalis</i>	APY22699	0.81	0.36	Up
<i>EsigIR21</i>	部分嗜离子受体 7d1	<i>Heliconius erato petiverana</i>	AMM70683	0.95	0.00	Up
<i>EsigIR22</i>	离子化受体 93a	<i>Conogethes pinicolalis</i>	QEE82793	1.56	0.00	Up
<i>EsigIR23</i>	嗜离子受体 25a 同型体 X1	<i>Helicoverpa armigera</i>	XP_021185959	0.83	0.00	Up
<i>EsigIR24</i>	部分嗜离子受体 7d2	<i>Heliconius melpomene rosina</i>	AMM70650	0.92	0.00	Up
<i>EsigIR25</i>	假定的嗜离子受体 IR7d	<i>Athetis lepigone</i>	AOE47993	12.76	0.00	Up

注：A 为成虫触角样品；H 为 12 龄幼虫头部样品。
Note: A is adult antenna sample; H is twelve-instar larva head sample.

表 4 已鉴定的桉蝙蛾嗅觉相关基因

Tab. 4 Olfactory genes associated with identification of *E. vietnamensis* Buchsbaum & Grehan

基因 Gene	NR 注释 NR description	物种 Species	登录号 Acc. No.
<i>EsigOBP4</i>	气味结合蛋白 LOC100307012 前体	<i>Bombyx mori</i>	NP_001159621
<i>EsigOBP6</i>	气味结合蛋白	<i>Ectropis obliqua</i>	ALS03864
<i>EsigOBP7</i>	假定的气味结合蛋白 A10 亚型 X2	<i>Zeugodacus cucurbitae</i>	XP_011177223
<i>EsigOBP10</i>	一般气味结合蛋白 67	<i>Eumeta japonica</i>	GBP19217
<i>EsigOBP11</i>	假定的气味结合蛋白	<i>Conopomorpha sinensis</i>	QGN03643
<i>EsigOBP12</i>	假定的气味结合蛋白 8	<i>Conopomorpha sinensis</i>	QGN03642
<i>EsigOBP13</i>	Minus-气味结合蛋白	<i>Batocera horsfieldi</i>	ADD82416
<i>EsigOBP14</i>	假定的气味结合蛋白 8	<i>Conopomorpha sinensis</i>	QGN03642
<i>EsigOBP15</i>	假定的气味结合蛋白	<i>Conopomorpha sinensis</i>	QGH51239
<i>EsigOBP16</i>	气味结合蛋白 2	<i>Monochamus alternatus</i>	AHA39267
<i>EsigGOBP1</i>	一般气味结合蛋白 70 类	<i>Amyelois transitella</i>	XP_013201142
<i>EsigGOBP2</i>	一般气味结合蛋白 56d 类	<i>Hypsmocoma kahamanoa</i>	XP_026319368
<i>EsigGOBP5</i>	一般气味结合蛋白 19d	<i>Eumeta japonica</i>	GBP31818
<i>EsigGOBP8</i>	一般气味结合蛋白 19d 类	<i>Papilio xuthus</i>	XP_013173035
<i>PBP2</i>	一般气味结合蛋白 99a	<i>Danaus plexippus plexippus</i>	XP_032518123
<i>PBP3</i>	一般气味结合蛋白	<i>Dendrolimus kikuchii</i>	AGJ83357
<i>EsigCSP1</i>	化学感应的蛋白质	<i>Dendrolimus houi</i>	AII01011
<i>EsigCSP2</i>	化学感觉蛋白	<i>Cnaphalocrocis medinalis</i>	ALT31606
<i>EsigCSP4</i>	化学感觉蛋白 CSP14	<i>Lobesia botrana</i>	AXF48711
<i>EsigCSP5</i>	化学感觉蛋白 CSP23	<i>Lobesia botrana</i>	AXF48719
<i>EsigCSP7</i>	化学感应的蛋白质	<i>Eogystia hippophaecolus</i>	AOG12893

续表 4 已鉴定的校蝙蛾嗅觉相关基因

Tab. 4 Olfactory genes associated with identification of *E. vietnamensis* Buchsbaum & Grehan (continued)

基因 Gene	NR 注释 NR description	物种 Species	登录号 Acc. No.
<i>EsigCSP8</i>	化学感觉蛋白 1 部分变异	<i>Bombyx mori</i>	AFF18026
<i>OR1</i>	气味受体类 OR1	<i>Anoplophora glabripennis</i>	XP_023310030
<i>OR3</i>	气味受体 14, 部分	<i>Cnaphalocrocis medinalis</i>	ALT31668
<i>OR4</i>	嗅觉受体 OR3	<i>Rhyacophila nubila</i>	AYN64393
<i>OR6</i>	假设气味受体 85d	<i>Drosophila sechellia</i>	XP_002032031
<i>OR7</i>	4 类气味受体	<i>Ctenocephalides felis</i>	XP_026480036
<i>OR8</i>	气味受体 OR15	<i>Colaphellus bowringi</i>	ALR72560
<i>OR9</i>	22 类味觉和气味感受器	<i>Vanessa tameamea</i>	XP_026492293
<i>OR10</i>	嗅觉受体 OR4	<i>Rhyacophila nubila</i>	AYN64394
<i>OR11</i>	85c 类气味受体	<i>Danaus plexippus plexippus</i>	XP_032521521
<i>OR13</i>	气味受体共受体	<i>Eriocrania semipurpurella</i>	ATV96621
<i>OR14</i>	47a 类气味受体	<i>Nylanderia fulva</i>	XP_029159982
<i>OR15</i>	59b 类气味受体	<i>Drosophila serrata</i>	XP_020801244
<i>OR16</i>	气味受体 13a	<i>Ctenocephalides felis</i>	XP_026480046
<i>OR17</i>	13a 类气味受体	<i>Hyposmocoma kahamanoa</i>	XP_026322472
<i>OR18</i>	气味受体 49a 类	<i>Papilio xuthus</i>	XP_013164627
<i>OR18</i>	气味受体 43a-2	<i>Bactrocera dorsalis</i>	AKI29036
<i>OR19</i>	类似 49b 的气味受体	<i>Vanessa tameamea</i>	XP_026496790
<i>OR20</i>	22c 类气味受体	<i>Temnothorax curvispinosus</i>	XP_024869954
<i>OR21</i>	气味受体	<i>Eogystia hippophaecolus</i>	AOG12928
<i>EsigGR1</i>	未表征蛋白 LOC110383784	<i>Helicoverpa armigera</i>	XP_021200353
<i>EsigGR3</i>	未命名的蛋白质产品, 部分	<i>Callosobruchus maculatus</i>	VEN40019
<i>EsigGR4</i>	味觉和气味感受器 22 类	<i>Vanessa tameamea</i>	XP_026492293
<i>EsigGR5</i>	糖的味觉感受器 43a	<i>Zeugodacus cucurbitae</i>	XP_011189783
<i>EsigGR6</i>	部分假定的味觉受体 GR55	<i>Hedya nubiferana</i>	AST36215
<i>EsigGR7</i>	糖的味觉感受器 43a 类	<i>Pieris rapae</i>	XP_022122807
<i>EsigIR25a-2</i>	嗜离子受体 25a	<i>Bombyx mandarina</i>	XP_028034019
<i>EsigIR93a-5</i>	离子化受体 93a 类	<i>Ostrinia furnacalis</i>	XP_028174055
<i>EsigIR11</i>	嗜离子受体 IR13	<i>Lobesia botrana</i>	AXF48844
<i>EsigIR12</i>	离子化受体 40a	<i>Hyposmocoma kahamanoa</i>	XP_026328485
<i>EsigIR19</i>	部分嗜离子受体 7d1	<i>Heliconius telesiphe sotericus</i>	AMM70701

且与在成虫触角和 12 龄幼虫头部中的表达量相比差异显著 ($P<0.05$); 在 12 龄幼虫头部中, *OBP17*、*OR24* 和 *OR25* 表达量最高, 其中 *OBP17* 和 *OR24* 与在成虫触角和 5 龄幼虫头部中的表达量相比差异显著 ($P<0.05$); 在成虫触角中, *GOBP9*、*OR22* 和 *GR8* 表达量最高, 其中 *GOBP9* 和 *GR8* 与在 5 龄幼虫头部和 12 龄幼虫头部中的表达量相比差异显著 ($P<0.05$)。 *GOBP9* 和 *OR22* 的表达量随龄期的增加而增加, 而 *OR23* 的表达

量则降低。

3 讨论

本研究对转录组测序所得的 clean reads 进行组装和拼接, 获得的 unigenes 平均长度为 995.89 bp, 与大蜡螟 (*Galleria mellonella* Linnaeus, 781 bp) ^[18] 和仁扇舟蛾 (*Clostera restitura* Walker, 896 bp) ^[10] 的结果相近。其中, 34.27% 的 unigenes 可以同源比对到 NR 数据库, 且比对上最多的物种为鳞翅目昆

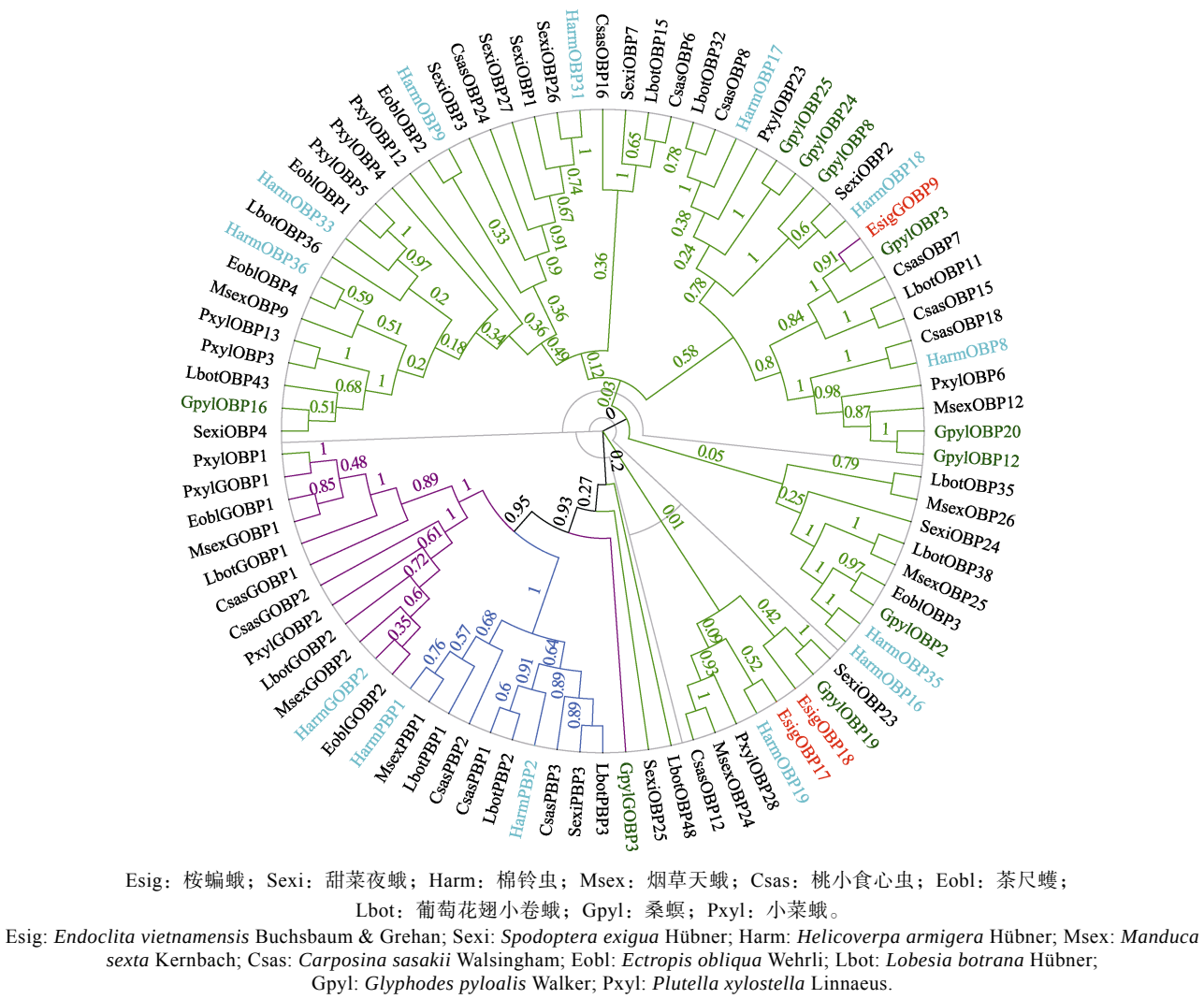


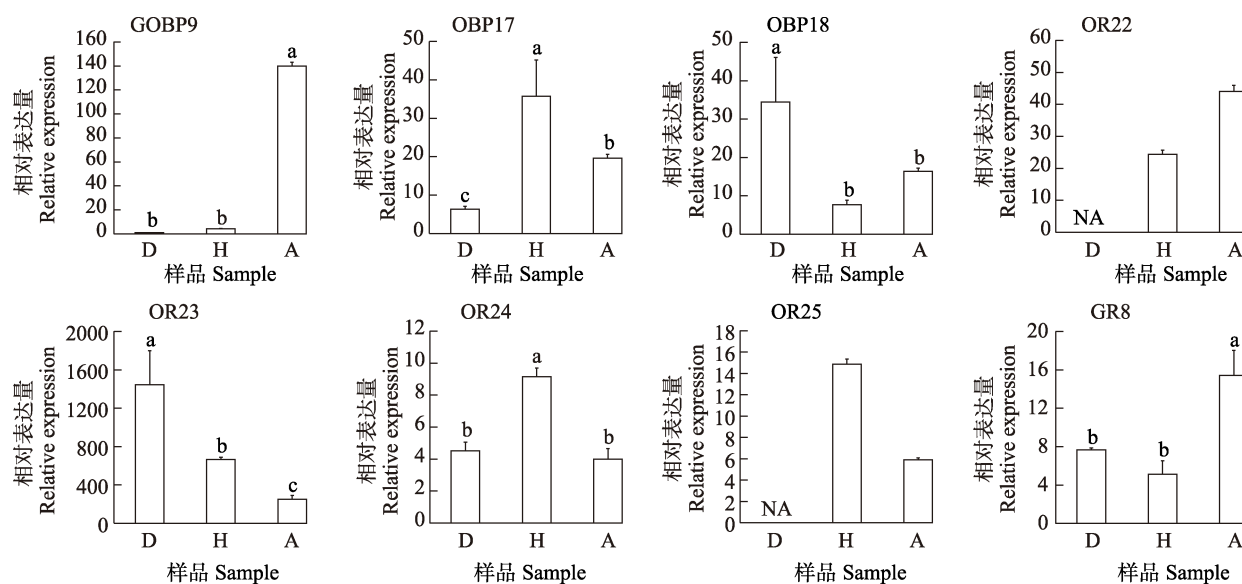
Fig. 6 Phylogenetic tree of *E. vietnamensis* Buchsbaum & Grehan OBPs

虫，进一步说明了该桉蝙蛾转录组的可靠性。

本研究在桉蝙蛾转录组共初步鉴定出 66 个嗅觉相关蛋白，包括 19 个 OBPs、6 个 CSPs、23 个 ORs、11 个 IRs 和 7 个 GRs，嗅觉相关蛋白数量低于其他鳞翅目昆虫，如在斜纹夜蛾 (*S. litura*) 转录组中鉴定出 158 个嗅觉相关基因^[19]；在仁扇舟蛾 (*C. restitura*) 雌、雄虫触角转录组中共鉴定出 165 个嗅觉相关基因^[10]；在稻纵卷叶螟 (*Cnaphalocrocis medinalis* Guenee) 成虫转录组中鉴定出 97 个嗅觉相关基因^[20]；在茶谷蛾 (*Agriophara rhombata* Meyrich) 成虫触角转录组中挖掘到 238 个候选嗅觉相关基因^[21]；推测出现这种现象可能是因为相较于其他鳞翅目昆虫，不论是幼虫还是成虫，桉蝙蛾的活动能力更弱，活动范围更小，生存环境更单一，因此表达的嗅觉蛋白基因更少。其次，不同的测序方法获得的转

录组数据也存在着一一定的差异，如 ZHANG 等^[22]通过 Illumina Hiseq 2000 对棉铃虫 (*H. armigera*) 触角转录组测序，鉴定出 133 个嗅觉相关基因，而 LIU 等^[23]通过 Roche 454 测序技术在棉铃虫中仅鉴定出 97 个嗅觉蛋白基因，推测桉蝙蛾的嗅觉蛋白基因仍有待发掘。

系统发育分析结果显示，EsigGOBP9 与桑螟 GpylOBP3 在自展支持率大于 90% 的情况下聚集在同一支；EsigOBP18 与桑螟 GpylOBP19 聚在一起；EsigOBP17 与棉铃虫 HarmOBP19 聚在同一支，推测 EsigGOBP9 与桑螟 GpylOBP3、EsigOBP18 与桑螟 GpylOBP19、EsigOBP17 与棉铃虫 HarmOBP19 功能相近。根据宋文森^[24]的研究结果，在桑螟雌雄触角表达量比较中，桑螟 GpylOBP3 在雌虫触角中表达量更高，桑螟 GpylOBP19 在雄虫触角中表达量更高，推测



A: 成虫触角样品, H: 12 龄幼虫头部样品, D: 5 龄幼虫头部样品。不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。NA 表示无表达。

A: Adult antennae sample, H: 12th instar larva head sample, D: 5th instar larva head sample. Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$). NA means no expression.

图 7 桉蝙蛾嗅觉蛋白表达谱

Fig. 7 Olfactory protein expression profile of *E. vietnamensis* Buchsbaum & Grehan

EsigGOBP9 与 EsigOBP18 也具有相应的雌雄触角表达分布。

绝大部分 OBP 基因在昆虫触角中高表达^[25], 这与 OBPs 作为载体参与触角淋巴液气味分子运输的功能相关^[26]; 同时 OBP 在昆虫的不同时期表达量也不同, 可能与 OBP 在昆虫特定时期承担的功能不同有关, 如桃小食心虫 *CsasOBP7* 在成虫交配高峰期触角中的表达量远高于其他时期^[27]。在本研究中, 新鉴定了 3 个 OBPs, 在各龄期均有不同程度的表达, 其中 *EsigGOBP9* 在成虫触角中显著高表达且远高于其他 2 个基因, 这意味着 *EsigGOBP9* 可能结合桉蝙蛾成虫释放的性信息素, 在雌雄虫的求偶过程中起着重要作用, 值得进一步研究。

幼虫头部是触角着生部位, 触角是昆虫进行嗅觉识别的主要器官, 而 ORs 是主要分布在触角的嗅觉相关蛋白^[28], 推测这些基因可能也主要行使桉蝙蛾幼虫嗅觉识别功能; WEN 等^[29]在对草地螟 (*Loxostege sticticalis* Linnaeus) 幼虫的研究中发现 *LstiOR5* 是其识别大豆叶挥发物水杨酸甲酯的重要嗅觉蛋白, 且 *LstiOR5* 在草地螟幼虫头部特异性高表达; 宋玄^[30]在对红侧沟茧蜂 (*Microplitis mediator* Haliday) 幼虫的气味受体 *MmedOR48* 的研究中证明 *MmedOR48* 主要功能是识别植物挥发物, 且 *MmedOR48* 在中红侧沟茧

蜂幼虫头部高表达。在本研究中, 新鉴定了 4 个 ORs, 其中 *EsigOR23* 在 5 龄幼虫头部的表达量显著高于其他龄期, 且远高于其他 3 个 ORs 的表达量。所以推测在桉蝙蛾 5 龄幼虫头部显著表达的 *EsigOR23* 可能是识别寄主植物挥发物的重要气味受体蛋白, 值得进一步研究。

ORs 的功能与其表达模式有关, 不同组织中 ORs 的表达存在很大差异^[31]; 研究发现 ORs 除了在嗅觉感受器丰富的触角上高表达之外, 在其他器官也有表达, 如申建梅等^[32]研究表明瓜实蝇 (*Bactrocera cucurbita* Coquillett) 的 ORs 除了在头部表达外, 在翅和足部也有少量表达; 还有研究发现 ORs 在味觉器官如东亚飞蝗 (*Locusta migratoria* manilensis) 的喙中表达^[33]。本研究 qPCR 结果表明, *EsigOR22* 和 *EsigOR25* 在桉蝙蛾 5 龄幼虫头部中不表达, 推测 *EsigOR22* 和 *EsigOR25* 可能在桉蝙蛾 5 龄幼虫时期的其他部位表达, 这 2 个基因在桉蝙蛾 5 龄幼虫时期可能是参与除气味感受之外的其他生理生化反应, 具有气味感受外的其他功能。

参考文献

- [1] 杨秀好, 于永辉, 曹书阁, 骆有庆, 罗基同, 王辑建. 桉树蛀干新害虫桉蝙蛾形态与生物学研究[J]. 林业科学研究, 2013, 26(1): 34-40.

- YANG X H, YU Y H, CAO S G, LUO Y Q, LUO J T, WANG J J. Morphology and biology of *Endoclyta signifier* Walker (Lepidoptera: Hepialidae), a new wood borer on eucalyptus[J]. Forest Research, 2013, 26(1): 34-40. (in Chinese)
- [2] 杨秀好, 罗基同, 吴耀军, 邹东霞, 胡平. 林木重大钻蛀性害虫桉蝙蛾分布与危害[J]. 中国森林病虫, 2021, 40(4): 34-40.
- YANG X H, LUO J T, WU Y J, ZOU D X, HU P. Distribution and damage of major wood borer pest, *Endoclyta signifier* Walker[J]. Forest Pest and Disease, 2021, 40(4): 34-40. (in Chinese)
- [3] 王缉健, 杨秀好, 罗基同, 梁晨, 冯光秒. 桉蝙蛾生物学研究[J]. 中国森林病虫, 2015, 34(1): 9-13.
- WANG J J, YANG X H, LUO J T, LIANG C, FENG G M. Bionomics of *Endoclyta signifier*[J]. Forest Pest and Disease, 2015, 34(1): 9-13. (in Chinese)
- [4] 杨秀好. 桉蝙蛾生物生态学特性的研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2013.
- YANG X H. Studies on the bio-ecological characteristics of *Endoclyta signifier* Walker (Lepidoptera: Hepialidae)[D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2013. (in Chinese)
- [5] 胡平, 杨秀好, 杨振德. 桉蝙蛾幼虫触角及胸腹体表感器形态及分布特征[J]. 北京林业大学学报, 2021, 43(9): 111-120.
- HU P, YANG X H, YANG Z D. Morphology and distribution of sensillum on antennal, thoracic and abdominal tegument of *Endoclyta signifier* larva[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2021, 43(9): 111-120. (in Chinese)
- [6] 邱峙嵩, 陈晓, 马洪轩, 胡平. 桉蝙蛾 3 龄幼虫嗅觉结合蛋白的高表达量与其寄主选择时期的一致性[J]. 环境昆虫学报, 2023, 45(3): 711-718.
- QIU Z S, CHEN X, MA H X, HU P. High expression of binding proteins in 3rd larvae of *Endoclyta signifier* consistent with its host selection behavior[J]. Journal of Environmental Entomology, 2023, 45(3): 711-718. (in Chinese)
- [7] 于永辉. 桉蝙蛾生物生态学特性研究[D]. 南宁: 广西大学, 2012.
- YU Y H. Bionomics and ecological characteristics of *Ofendoclyta signifier* Walker[D]. Nanning: Guangxi University, 2012. (in Chinese)
- [8] 莫建初, 王成盼, 尉吉乾. 昆虫外周嗅觉系统研究进展[J]. 江西农业大学学报, 2019, 41(1): 50-57.
- MO J C, WANG C P, WEI J Q. Advance in the research on insect peripheral olfactory system[J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2019, 41(1): 50-57. (in Chinese)
- [9] 王晓双, 唐良德, 吴建辉. 昆虫嗅觉相关蛋白的研究进展[J]. 热带作物学报, 2017, 38(6): 1171-1179.
- WANG X S, TANG L D, WU J H. Research progress on olfactory proteins of insects[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2017, 38(6): 1171-1179. (in Chinese)
- [10] 顾天滋. 仁扇舟蛾嗅觉相关基因鉴定及 GOBP2 蛋白功能研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2019.
- GU T Z. Identification of olfactory genes and functional analysis of GOBP2 in *Clostera restituta*[D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2019. (in Chinese)
- [11] BREER H, KRIEGER J, RAMING K. A novel class of binding proteins in the antennae of the silk moth *Antheraea pernyi*[J]. Insect Biochemistry, 1990, 20(7): 735-740.
- [12] ZHANG X, YANG Z, YANG X. Olfactory proteins and their expression profiles in the *Eucalyptus* pest *Endoclyta signifier* larvae[J]. Frontiers in Physiology, 2021, 12(6): 682537.
- [13] 吴帆, 张莉, 邱一蕾, 李红亮. 昆虫嗅觉结合蛋白研究进展[J]. 昆虫学报, 2021, 64(4): 523-535.
- WU F, ZHANG L, QIU Y L, LI H L. Research progress of olfactory binding proteins in insects[J]. Acta Entomologica Sinica, 2021, 64(4): 523-535. (in Chinese)
- [14] 许原, 张玉静, 熊运凡, 黄颖, 钟声, 朱昭华, 杨振德, 胡平. 桉蝙蛾幼虫对桉树树干及其林下浅层土壤挥发物的嗅觉行为反应[J]. 南方农业学报, 2022, 53(7): 1953-1962.
- XU Y, ZHANG Y J, XIONG Y F, HUANG Y, ZHONG S, ZHU Z H, YANG Z D, HU P. Olfactory responses of *Endoclyta signifier* Walker larvae to volatiles of eucalyptus trunks and shallow soil under eucalyptus forest[J]. Journal of Southern Agriculture, 2022, 53(7): 1953-1962. (in Chinese)
- [15] 董祥, 陶瑜, 苏钟琪, 邓创创, 谢雯其, 陈志云, 温秀军, 林娜, 马涛. 团花绢野螟成虫触角转录组及化学感受相关基因分析[J]. 昆虫学报, 2024, 67(6): 738-752.
- DONG X, TAO Y, SU Z Q, DENG C C, XIE W Q, CHEN Z Y, WEN X J, LIN N, MA T. Analysis of the adult antennal transcriptome and chemosensory-related genes of *Diaphania glauculalis* (Lepidoptera: Pyralidae)[J]. Acta Entomologica Sinica, 2024, 67(6): 738-752. (in Chinese)
- [16] 陈晓, 邱峙嵩, 苏小燕, 许原, 曹丽沙, 杨振德, 胡平. 桉蝙蛾幼虫实时荧光定量 PCR 内参基因的筛选[J]. 环境昆虫学报, 2023, 45(4): 1016-1026.
- CHEN X, QIU Z S, SU X Y, XU Y, CAO L S, YANG Z D, HU P. Screening of reference genes for RT-qPCR analysis in *Endoclyta signifier* Walker larvae[J]. Journal of Environmental Entomology, 2023, 45(4): 1016-1026. (in Chinese)
- [17] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method[J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408.
- [18] 杨爽, 赵慧婷, 徐凯, 郭丽娜, 杜亚丽, 李新宇, 苏文婷, 冯宇佳, 龙登隆, 姜玉锁. 大蜡螟触角转录组及嗅觉相关基因分析[J]. 应用昆虫学报, 2019, 56(6): 1279-1291.

- YANG S, ZHAO H T, XU K, GUO L N, DU Y L, LI X Y, SU W T, FENG Y J, LONG D L, JIANG Y S. Analysis of the antennal transcriptome and olfaction-related genes of the greater wax moth *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae)[J]. Chinese Journal of Applied Entomology, 2019, 56(6): 1279-1291. (in Chinese)
- [19] 李璐璐. 气味结合蛋白参与性信息素引诱斜纹夜蛾幼虫取食的功能分析[D]. 淮北: 淮北师范大学, 2022.
- LI L L. Functional analysis of odorant-binding proteins involved in sex pheromone induced feeding of *Spodoptera litura* larvae[D]. Huaibei: Huaibei Normal University, 2022. (in Chinese)
- [20] 曾芳芳. 稻纵卷叶螟嗅觉相关蛋白的功能分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2017.
- ZENG F F. Functional analysis of olfactory proteins in *Cnapharocrosis medinalis*[D]. Wuhang: Huazhong Agricultural University, 2017. (in Chinese)
- [21] 龙亚芹, 罗梓文, 王雪松, 龙丽雪, 玉香甩, 李金龙, 曲浩, 汪云刚, 陈林波. 茶谷蛾成虫触角转录组及嗅觉相关基因分析[J]. 茶叶科学, 2021, 41(4): 553-563.
- LONG Y Q, LUO Z W, WANG X S, LONG L X, YU X S, LI J L, QU H, WANG Y G, CHEN L B. Analysis of the Antennal transcriptome and olfactory-related genes in the *Agriophara rhombata*[J]. Journal of Tea Science, 2021, 41(4): 553-563. (in Chinese)
- [22] ZHANG J, WANG B, DONG S. Antennal transcriptome analysis and comparison of chemosensory gene families in two closely related noctuidae moths, *Helicoverpa armigera* and *H. assulta*[J]. PLoS One, 2015, 10(2): e117054.
- [23] LIU Y, GU S, ZHANG Y. Candidate olfaction genes identified within the *Helicoverpa armigera* antennal transcriptome[J]. PLoS One, 2017, 7(10): e48260.
- [24] 宋文森. 桑螟嗅觉相关基因的鉴定、组织表达谱及体外表达的研究[D]. 镇江: 江苏科技大学, 2019.
- SONG W M. Identification, tissue expression profile and protein expression research of *Glyphodes pyloalis* olfactory genes[D]. Zhenjiang: Jiangsu University of Science and Technology, 2019. (in Chinese)
- [25] 陈秀琳, 苏丽, 陈丽慧, 李怡萍, 仵均祥, 李广伟. 梨小食心虫 Minus-C 气味结合蛋白的分子克隆、表达谱及结合特性分析[J]. 昆虫学报, 2018, 61(7): 771-783.
- CHEN X L, SU L, CHEN L H, LI Y P, WU J X, LI G W. Molecular cloning, expression profiling and binding characterization of a minus-C odorant binding protein from the oriental fruit moth, *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae)[J]. Acta Entomologica Sinica, 2018, 61(7): 771-783. (in Chinese)
- [26] BENTON R, VANNICE K S, VOSSHALL L B. An essential role for a CD36-related receptor in pheromone detection in *Drosophila*[J]. Nature, 2007, 450: 289-293.
- [27] 李凯旋, 李艳艳, 王树娟, 斯琴, 张丽莹, 庞保平. 桃小食心虫成虫期高表达气味结合蛋白基因的克隆与表达谱分析[J]. 昆虫学报, 2022, 65(11): 1426-1436.
- LI K X, LI Y Y, WANG S J, SI Q, ZHANG L Y, PANG B P. Cloning and expression profiling of odorant binding protein genes highly expressed in *Carposina sasakii* (Lepidoptera: Carposinidae) adults[J]. Acta Entomologica Sinica, 2012, 65(11): 1426-1436. (in Chinese)
- [28] 邱峙嵩. 桉蝙蛾幼虫嗅觉相关蛋白的鉴定及气味结合蛋白结合特性分析[D]. 南宁: 广西大学, 2023.
- QIU Z S. Identification of olfactory related proteins and analysis of binding properties of odorant binding proteins in the larvae of *Endocrita signifer walker*[D]. Nanning: Guangxi University, 2023. (in Chinese)
- [29] WEN M, LI E, CHEN Q, KANG H, ZHANG S, LI K, WANG Y, JIAO Y. A herbivore-induced plant volatile of the host plant acts as a collective foraging signal to the larvae of the meadow moth, *Loxostege sticticalis* (Lepidoptera: Pyralidae)[J]. Journal of Insect Physiology, 2019, 118: 103941.
- [30] 宋玄. 中红侧沟茧蜂气味结合蛋白 MmedOBP18 和气味受体 MmedOR19、25、48 的功能研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2019.
- SONG X. Functional studies on odorant binding protein MmedOBP18 and odorant receptor MmedOR19, 25, 48 of the *Microplitis mediator* Haliday[D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2019. (in Chinese)
- [31] LEGEAI F, SÉBASTIEN M, NICOLAS M. An expressed sequence tag collection from the male antennae of the Noctuid moth *Spodoptera littoralis*: a resource for olfactory and pheromone detection research[J]. BMC Genomics, 2011, 12(1): 1-18.
- [32] 申建梅, 胡黎明, 宾淑英, 林进添. 瓜实蝇嗅觉受体基因的克隆及表达谱分析[J]. 昆虫学报, 2011, 54(3): 265-271.
- SHEN J M, HU L M, BIN S Y, LIN J T. Cloning and expression profiling of an olfactory receptor gene in *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae)[J]. Acta Entomologica Sinica, 2011, 54(3): 265-271. (in Chinese)
- [33] YANG Y, KRIEGER J, ZHANG L. The olfactory co-receptor Orco from the migratory locust (*Locusta migratoria*) and the desert locust (*Schistocerca gregaria*): identification and expression pattern[J]. International Journal of Biological Sciences, 2012, 8(2): 159-170.